

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ
ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ
ՀԱՆԴԵՍ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
АРМЕНИИ

Խմբագրական կոլեկտիվ՝ Ծ. Մ. Ավագյան, Վ. Ե. Ավետիսյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (գլխավոր խմբագիր), Հ. Գ. Քաղկավաչյան, Հ. Գ. Բատիկյան, Ա. Շ. Գալստյան (գլխ. խմբագրի տեղակալ), Ժ. Ի. Հակոբյան, Վ. Հ. Ղազարյան, Կ. Ս. Մարջանյան (սլաւո. քարտուղար), Ս. Հ. Մովսիսյան:

Խմբագրական խորհուրդ՝ Ն. Ն. Ակրամովսկի, Վ. Շ. Աղարարյան, Հ. Ս. Ավետյան, Է. Գ. Աֆրիկյան (խորհրդի նախագահ), Գ. Ն. Բարսյան, Ս. Ա. Բակունց, Գ. Ս. Դավթյան, Ա. Լ. Թախտաջյան, Պ. Ա. Խորշուդյան, Ս. Կ. Կարապետյան, Ե. Հ. Հասրաթյան, Մ. Գ. Հովհաննիսյան, Լ. Լ. Հովսեփյան, Լ. Ս. Կամբարյան, Ա. Ա. Մաթևոսյան, Մ. Խ. Չալախյան, Ս. Հ. Պողոսյան, Մ. Ե. Տեր-Մինասյան:

ԽՄԲԱԳՐԱՒԹՅԱՆ ՀԱՍՑԵՆ՝ Երևան—19, Բարեկամության, 24դ, հեռ. 58-01-97

Редакционная коллегия: Ц. М. Авакян, В. Е. Аветисян, Ж. И. Акопян, Э. К. Африкян (главный редактор), О. Г. Баклаваджян, Г. Г. Батикян, А. Ш. Галстян (зам. главного редактора), В. О. Казарян, К. С. Марджанян (ответ. секретарь), С. О. Мовсесян.

Редакционный совет: А. С. Аветян, В. Ш. Агабабян, Н. Н. Акрамовский, Э. А. Асратян, Э. К. Африкян (пред. совета), Д. Н. Бабалян, С. А. Бакунц, Г. С. Давтян, Л. С. Гамбарян, С. К. Карапетян, А. А. Матевосян, М. Г. Оганесян, Л. Л. Осипян, С. А. Погосян, А. Л. Тахтаджян, М. Е. Тер-Минасян, П. А. Хуршудян, М. Х. Чайлахян.

АДРЕС РЕДАКЦИИ: 375019, Ереван-19, Барекамутия 24г, тел. 58-01-97.

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

Փորձառական

- Աֆրիկյան Է. Գ., Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., ԲիՊ բակտերիալ ինսեկտիցիդային պրեպարատը
և *Bacillus thuringiensis* var. *caucasicus* կուլտուրաների կենսաբանական
առանձնահատկությունները 355
- Ռաուտենշտեյն Յա. Ի., Սելովյովա Ն. Յա., Բլոխինա Տ. Բ., Մոսկալենկո Լ. Ն., Խա-
չատրյան Լ. Ս. *Bacillus thuringiensis* var. *caucasicus* կուլտուրաների զգա-
յունությունը ֆագերի և իզոգենիայի էրեույթի առանձնահատկությունների վերա-
բերյալ 366
- Ջուրաբովա Է. Ռ., Ռիժկովա Ա. Ս., Գուրինինա Տ. Պ. *Bacillus thuringiensis* տեսա-
կի սերոտիպ 10-ի տարատեսակների ուսումնասիրությունը 371
- Սինիցինա Լ. Պ., Օստրոգսկայա Ն. Ա., Բիբլովովա Ա. Պ., Նովիկովա Լ. Կ., ԲիՊ պրեպարատի
ակտիվության կենսաբանական որոշման մեթոդ 379
- Խաչատրյան Ա. Ա. *Bacillus thuringiensis* տեսակի 10-րդ սերոտիպի կուլտուրաների
լրացուցիչ ֆիզիոլոգո-բիոքիմիական հատկանիշները 383
- Խաչատրյան Ա. Ա., Բորիկյան Ռ. Հ., Մարտիրոսովա Տ. Ա., Ավետյան Ժ. Հ., Աֆրիկ-
յան Է. Գ. Լիոֆիլիզացիայի ազդեցությունը *Bacillus thuringiensis* var. *cauca-
sicus* կուլտուրաների կարևոր առանձնահատկությունների վրա 391
- Պիլինգարյան Կ. Հ. Հայաստանում *Bacillus thuringiensis* բակտերիաների սերոտի-
պերի տարածումը 393
- Պիլինգարյան Վ. Հ., Օրմանյան Ժ. Խ., Ղազարյան Բ. Կ., ԲիՊ պրեպարատների էնտոմո-
պաթոգեն ազդեցության սպեկտրը և արդյունավետությունը 403
- Սուրոնա Ի. Ա., Վանդոսկա Ն. Յա., Սնիլեն Զ. Յա., Շարկովով Ֆ. Մ., Չիլինգար-
յան Վ. Հ., Գալետենկո Ա. Մ., Խոլչենկով Վ. Ա., Պաստովս Գ. Ի. ԲԻՊ բակտե-
րիալ պրեպարատի էֆեկտիվությունը տերեակրծող ինֆուլսաֆեսալորների նկատմամբ 416
- Սավկև Գ. Ն., Կոզլով Մ. Պ., Բակտերիալ ինսեկտիցիդ պրեպարատների ազդեցությունը
Xenopsylla cheopis Roths. լվերի վրա 420

Համառոտ հաղորդումներ

- Պուպով Յու. Գ., Չուբարյան Ս. Վ. էնտոմոպաթոգեն բացիլների արգինազայի ուսումնա-
սիրումը 426
- Նովիցկայա Տ. Ն., Ջուլիա Լ. Գ. *Bacillus thuringiensis* var. *caucasicus* բակտերիա-
ների պրեպարատների օգտագործումն այգիների վնասատուների դեմ 429
- Ղուկասյան Վ. Մ., Ղուկասյան Ա. Բ. *Bacillus thuringiensis* բակտերիաների ֆիզիոլո-
գիական ակտիվությունը փշատերև-տերեակրծողների հանդեպ 432
- Յինիախ Բ. Յա. *Bacillus thuringiensis* բիոպրեպարատների կառվարչային օգտա-
գործման արդյունքները 436
- Կոնդրյա Վ. Ա., Տրետյակովա Մ. Ֆ., Լուպուլշով Մ. Գ., Սմելի Վ. Լ. Բիոպրեպարատ-
ների օգտագործումն այգու որոշ տերեակրծող իրիդորների դեմ 439
- Սիանսարյան Ի. Տ., Փիլյան Ա. Գ. Փորձնական սպայմաններում արյան սիստեմի ունակ-
ցիան 2-րդ սրտի հետերոտոպիկ տրանսպլանտացիայի ժամանակ 442

Հակոբյան Գ. Մ., Թումանյան Վ. Գ., Աֆրիկյան Է. Գ., Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., Նազարեթյան Ն. Ա. <i>Bacillus thuringiensis տարատեսակների ֆազոլիզիսի համեմատական ընդամասնումը</i>	446
Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., Մանուկյան Ա. Ռ., Ռաբայան Ա. Ա. <i>ԲիՊ պրեսպարատի արդյունաբերական արտադրության համար Bacillus thuringiensis var. caucasicus շտամների սերեկցիան</i>	447
Աֆրիկյան Է. Գ., Հունանյան Վ. Ա., Թադևոսյան Պ. Ն., Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., Սիմոնյան Է. Գ. <i>Վերամշակված տիզմի օգտագործումը Bacillus thuringiensis բակտերիաների աճեցման համար</i>	448
Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., Սեյրանյան Ի. Ռ., Չիլինգարյան Վ. Հ., Չիլինգարյան Կ. Հ. <i>Ջերմադիմացկուն տոքսինի առաջացման ուսումնասիրությունը Bacillus thuringiensis var. caucasicus կուլտուրաների մոտ</i>	449
Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա., Փաղպատյան Ա. Վ. <i>Galleria mellonella թրթուրների նկատմամբ Bacillus thuringiensis կուլտուրաների ինսեկտիցիդային ազդեցությունը</i>	450
Չիլինգարյան Վ. Հ., Չիլ-Հակոբյան Լ. Ա. <i>ԲիՊ պրեսպարատի ինսեկտիցիդային ակտիվության կախությունները պահպանման ընթացքում</i>	451

СОДЕРЖАНИЕ

Экспериментальные

Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. Бактериальный инсектицидный препарат БИП и биологические особенности культур <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i>	355
Раутеништейн Я. И., Соловьева Н. Я., Блохина Т. Б., Москаленко Л. Н., Хачатурян Л. С. Об особенностях лизогении и чувствительности к фагам культур <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i>	366
Зурабова Э. Р., Рыжкова А. С., Дубинина Т. П. Изучение разновидностей серотипа 10 вида <i>Bacillus thuringiensis</i>	374
Синицына Л. П., Острогская Н. А., Бирюкова А. М., Новикова Л. К. Метод биологической оценки препарата БИП	379
Хачатурян А. А. Дополнительные физиолого-биохимические признаки культур серотипа 10 <i>Bacillus thuringiensis</i>	385
Хачатурян А. А., Бобикян Р. А., Мартиросова Т. А., Аветян Ж. Н., Африкян Э. К. Влияние лиофилизации на важнейшие свойства штаммов <i>Bac. thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i>	391
Чилингарян К. О. Распространение серотипов <i>Bacillus thuringiensis</i> в Армении	398
Чилингарян В. А., Орманян Ж. Х., Казарян Б. К. Спектр энтомопатогенного действия и эффективность применения препаратов БИП	403
Строева И. А., Войновская Э. Я., Снiedzе Э. Я., Яркулов Ф. М., Чилингарян В. А., Галетенко С. М., Хоменков В. А., Пастух Г. И. Эффективность бактериального препарата БИП в борьбе с листогрызущими чешуекрылыми	416
Савельев В. Н., Козлов М. П. Действие бактериальных инсектицидных препаратов БИП на личинки и имаго блох <i>Xenopsylla cheopis</i> Roths.	420

Краткие сообщения

Попов Ю. Г., Чубарян С. В. Изучение аргиназы энтомопатогенных бацилл	426
Новицкая Т. Н., Джолия Л. Г. Использование бактериальных препаратов из культур <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> в борьбе с вредителями сада	429
Гукасян В. М., Гукасян А. Б. Физиологическая активность <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> к хвое- и листогрызущим насекомым	432
Цинитис Р. Я. Результаты использования биопрепаратов <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> в Латвии	436
Кондра В. С., Третьякова М. Ф., Лупулчук М. Д., Смелый В. Л. Испытание биопрепаратов в борьбе с некоторыми листогрызущими гусеницами в саду	439
Миансарян И. Т., Пилоян А. Г. Реакция системы крови на гетеротопическую пересадку второго сердца в экспериментальных условиях	442

Акопян Г. М., Туманян В. Г., Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А., Назаретян И. А. Сравнительная характеристика фаголизиса у разновидностей <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i>	446
Чил-Акопян Л. А., Манукян А. Р., Бабалян А. А. Отбор штаммов <i>Bacillus</i> <i>thuringiensis</i> var. <i>causasicus</i> для производства бактериального инсектицид- ного препарата БИП	447
Африкян Э. К., Унанян В. А., Татевосян П. Е., Чил-Акопян Л. А., Симонянц Э. Г. Использование отработанного ила для выращивания <i>Bacillus thurin-</i> <i>giensis</i>	448
Чил-Акопян Л. А., Сейранян И. Б., Чилингарян В. А., Чилингарян К. О. Ис- следование культур <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>causasicus</i> на образование термостабильного токсина	449
Чил-Акопян Л. А., Багдасарян А. В. Инсектицидное действие культур <i>Ва-</i> <i>cillus thuringiensis</i> var. <i>causasicus</i> на гусениц большой вошковой моли	450
Чилингарян В. А., Чил-Акопян Л. А. Стабильность инсектицидной активности БИП при хранении	451

CONTENTS

Experimental

<i>Afrikan E. G., Chil-Hakobian L. A.</i> Bacterial insecticide preparation BIP and biological properties of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> culture . . .	355
<i>Rautenshtein Ya. I., Solovyeva N. Ya., Blokhina T. B., Moskalenko L. N., Khachaturian L. S.</i> On the peculiarities of lysogeny and sensibility to phages of cultures of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i>	366
<i>Zurabova E. R., Riskova A. S., Dubinina T. P.</i> Study of serotype 10 subspecies of <i>Bacillus thuringiensis</i>	374
<i>Sinitzina L. P., Ostrogskaia N. A., Biryukova, Novikova L. K.</i> Method for biological assay of the preparation BIP	379
<i>Khachaturian A. A.</i> Additional physiological and biochemical properties of serotype 10 of <i>Bacillus thuringiensis</i>	385
<i>Khachaturian A. A., Bobikian R. H., Martirosova T. A., Avelian J. H., Afrikan E. G.</i> Influence of lyophilization on important properties of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> strains	391
<i>Chilingarian K. H.</i> Distribution of <i>Bacillus thuringiensis</i> serotypes in Armenia	398
<i>Chilingarian V. H., Ormantan J. A., Kazarian B. K.</i> Spectrum of entomopathogen action and efficiency of application of BIP preparations	403
<i>Stroyeva I. A., Vainovska E. Ya., Sniedze Z. Ya., Varkulov F. M., Chilingarian V. H., Galetenko S. M., Kholchenkov V. A., Pastukh G. I.</i> Efficiency of bacterial preparation BIP for Lepidoptera control	416
<i>Saveliev V. N., Kozlov M. P.</i> Study of action of BIP preparations on larvae and imago of <i>Xenopsylla cheopis</i> Roths	420

Short communications

<i>Popov Yu. G., Chubarian S. V.</i> Study of arginase from entomopathogenic bacilli	426
<i>Novitskaya T. N., Jolia L. G.</i> Use of bacterial preparations from <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>caucasicus</i> for control of garden pests	429
<i>Gukassiau V. M., Gukassian A. B.</i> Physiological activity of <i>Bacillus thuringiensis</i>	432
<i>Zinitis R. Ya.</i> Results of the use of biopreparations from <i>Bacillus thuringiensis</i> in Latvia	436
<i>Kondrya V. S., Tretyakova M. F., Lupulchuk M. D., Smelyi V. L.</i> Use of biopreparation for control of some garden lepidoptera larvae	439
<i>Miansarian I. T., Piloyan A. G.</i> Reaction of blood system to heterotopic transplantation on the second heart in experimental conditions	442

Abstracts

<i>Hakobian G. M., Toumanian V. G., Afrikan E. G., Chil-Hakobian L. A., Nazaretian N. A.</i> Comparative characteristics of phage phenomenon in <i>Bacillus thuringiensis</i> serotypes	446
---	-----

<i>Chil-Hakobian L. A., Manukian A. R., Babalan A. A.</i> Selection of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>causicus</i> strains for industrial production of preparation BIP	447
<i>Afrikan E. G., Hunanian V. A., Talevostan P. E., Chil-Hakobian L. A., St-moniants E. G.</i> Use of treated sewage for the cultivation of <i>Bacillus thuringiensis</i> and production of insecticide preparation	448
<i>Chil-Hakobian L. A., Setranian I. B., Chilingarian V. H., Chilingarian K. H.</i> Study of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>causicus</i> cultures on production of thermostable toxin	449
<i>Chil-Hakobian B. A., Bagdassarian A. V.</i> Insecticide action of <i>Bacillus thuringiensis</i> cultures on larvae of <i>Galleria mellonella</i> L.	450
<i>Chilingarian V. H., Chil-Hakobian L. A.</i> Stability of insecticide activity of BIP during the storage	451

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ИНСЕКТИЦИДНЫЙ ПРЕПАРАТ БИП И БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS*

Э. К. АФРИКЯН, Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН

Приведена краткая история создания нового бактериального инсектицидного препарата БИП на основе новой разновидности энтомопатогенных спорообразующих бактерий *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. На основании морфофизиологического и серологического изучения 330 культур *Bac. cereus-thuringiensis* представлены данные систематического разграничения от других серотипов *Bac. thuringiensis* и характеристика этой разновидности.

Ключевые слова: бактериальный препарат, микробиометод, инсектициды.

В 1961 г. в Институте микробиологии АН АрмССР из погибших гусениц тутового шелкопряда был выделен ряд культур спорообразующих бактерий, которые продуцировали энтомоцидные кристаллы и отличались от ранее описанных разновидностей *Bac. thuringiensis* характерными морфофизиологическими и серологическими особенностями, а также устойчивостью к действию фагов, полученных из штаммов этого вида. На основе проведенных в институте разработок были получены нативные и порошковидные препараты под условным наименованием БИП (бактериальный инсектицидный препарат) из некоторых новых штаммов (штаммы 805, 811, 837) бактерий, которые с 1963 г. изучались Институтом защиты растений МСХ АрмССР и другими учреждениями для использования в борьбе против многих вредоносных насекомых.

В 1968 г. культуры бактерий, послужившие основой для получения препаратов БИП, были описаны в литературе как новая разновидность под названием *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* [5, 6]. Описание данной разновидности закреплено авторским свидетельством СССР за № 237840 с приоритетом от 24 июня 1966 г.

В 1965 г. полученные на основе штаммов 805, 811, 837 сухие препараты БИП-805, БИП-811; БИП-837 прошли Государственные испытания в сети токсикологических лабораторий ВИЗР в различных зонах страны (Московская овощная токсикологическая станция, Воронежская СТАЗР, Прибалтийская токсикологическая лаборатория, Украинский НИИ защиты растений, Молдавская токсикологическая лаборатория, Грузинская токсикологическая лаборатория). Результаты испытаний с заключениями о высокой эффективности и перспективности этих препаратов были утверждены в 1966 г. VI Пленумом Госкомиссии по химичес-

ким средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками при МСХ СССР. Несмотря на это и ряд других положительных решений, внедрение препарата в промышленность затянулось, хотя в период 1972—76 гг. он изготовлялся Абовянским заводом биохимпрепаратов и применялся как в республике, так и во многих других районах страны. По итогам испытаний в 1978 г. 18-й Пленум Госкомиссии рекомендовал БИП для применения в народном хозяйстве: на овощных культурах—в борьбе с капустной и репной белянкой, капустной молью; на плодовых культурах—в борьбе с яблонной и плодовой молью, яблонной листовёрткой, кольчатым шелкопрядом, пяденицами. В этот период были разработаны и согласованы технологический регламент, технические условия (ТУ) и другие материалы, необходимые для организации промышленного производства БИП.

Инсектицидная активность препаратов БИП изучалась многими учреждениями. Установлена высокая активность их против капустной, яблонной, плодовой и мальвово-й молей, капустной и репной белянки, южной амбарной огневки, кукурузного стеблевого мотылька, карадрипы, американской белой бабочки, боярышниковой, гроздовой (виноградной), тополевой и серой листовёртки, пестрозолистой листовёртки, ивового влохвоста, ивовой волнянки, кленовой стрельчатки, златогузки, паутинного клеща на малине, ложногусениц желтого, крыжовникового пилильщика, кольчатого и непарного шелкопрядов, яблонной пло-доярки. По данным А. Гукасяна, БИП активен против сибирского шелкопряда. В преобладающем числе испытаний препараты БИП имели эффективность, одинаковую с контрольными партиями препаратов энтобактерина-3. Из испытанных 36 вредоносных насекомых чувствительными оказались 24. По данным испытаний Института защиты растений МСХ АрмССР, инсектицидная активность БИП не уступает энтобактерину-3, дефробациллину и импортным препаратам—турициду и биотролу. БИП применяется распылением 0,5—1%-ной водной суспензии, расход препарата находится в пределах 2—5 кг/га. Изготовленные в течение 1972—73 гг. опытные партии жидкого и пастообразного концентрата БИП обладали эффективностью, аналогичной сухому препарату.

Препараты БИП оказались неэффективными против совок (капустной, хлопковой, озимой, дикой, гамма и ипсилон), тополевой и мельничной огневки, плавучей кобылки, люцернового долгоносика, розанного пилильщика, дынной мухи, елового лубоеда и большой вошинной моли.

Препараты БИП сильно токсичны для гусениц тутового шелкопряда. По данным С. Г. Данеляна (Институт ветеринарии и животноводства МСХ АрмССР), скормливание 0,5—1%-ным раствором БИП не вызывает гибель медоносных пчел. При соблюдении надлежащих условий хранения сухие препараты БИП в течение двух лет заметно не снижают свою инсектицидную активность.

Токсикологические испытания препаратов БИП, проведенные в 1965 г., показали их безвредность для кроликов, белых мышей, крыс и

морских свинок при введении всеми практически возможными путями. Препарат БИП-805 в максимальной дозе был введен двум волонтерам без каких-либо патологических последствий [7].

Заключения об отсутствии патогенности БИП и культуры бактерий, используемой для его изготовления, были утверждены на заседании бюро Комитета по изучению и регламентации ядохимикатов при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР 7 февраля 1966 г. Справкой от 15 января 1975 г. ВНИИГИНТОКС было подтверждено отсутствие возражений против применения препаратов БИП в сельском и лесном хозяйствах; указано также, что гигиенические нормативы для препаратов БИП аналогичны тем, которые приняты для энтобактерина.

Препараты БИП не обладают токсичностью по отношению к растениям и рыбам. С начала энтомологических испытаний (с 1963 г.) по настоящее время проявлений токсичности БИП к теплокровным животным, человеку и растениям не отмечалось.

Все изложенное позволяет считать препараты БИП перспективными для производства бактериальных инсектицидов и эффективным средством защиты растений в сельском хозяйстве.

Источником получения БИП являются культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, характеризующиеся комплексом морфофизиологических, серологических и других особенностей, которые отличают их от штаммов других серотипов и разновидностей данного вида. Культуры этой разновидности образуют характерные для *Bac. thuringiensis* параспоральные ромбовидные кристаллы, которые после завершения споруляции выделяются в среду; термостабильный экзотоксин у культур этой разновидности не обнаружен [19]. Важной производственной особенностью культур разновидности *caucasicus* является то, что они резистентны к большинству фагов, продуцируемых штаммами других серотипов *Bac. thuringiensis*; в процессе культивирования этих штаммов на питательных средах не отмечается быстрого фаголизиса, характерного для других серотипов [1, 9—11].

БИП изготавливается по технологии, используемой для производства других известных бактериальных инсектицидов (энтобактерина, дендробациллина и др.). В качестве основных компонентов питательной среды могут быть использованы кукурузный экстракт, мука, БВК (белково-витаминный концентрат); установлена возможность выработки БИП на среде с отработанным илом [4].

В настоящей работе обобщены основные результаты работ по изучению биологических особенностей культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*.

Материал и методика. Объектами для микробиологических исследований и серотипирования послужила коллекция из 330 культур *Bac. cereus* и *Bac. thuringiensis*, выделенных в разные годы в лаборатории спорообразующих бактерий Института микробиологии АН АрмССР. Культуры были выделены при исследовании нормальной и патогенной микрофлоры тутового шелкопряда, его подстилки, эпифитной микрофлоры листа шелковицы и насекомых—вредителей сельского хозяйства. Серотипирова-

лись также культуры пекристаллофоров, выделенных из почв различных географических зон.

Изучавшиеся образцы были собраны в основном в Армении, некоторые получены из Грузии, Северного Кавказа, Узбекистана и других мест [13, 15, 18].

В работе использованы коллекционные культуры от отечественных авторов и из различных иностранных коллекций.

Антигенные свойства изучались серотипированием культур по методу Де Баржак и Бонфуа [20]. В работе использовались антисыворотки к H-антигенам типовых культур известных серотипов *Bac. thuringiensis*, полученные из Института Пастера в Париже. Антисыворотки к штаммам 805, 811, 837 приготовлены нами по вышеуказанному методу.

Серотипированием удалось выявить 45 культур, реагирующих положительно только на антисыворотки отмеченных трех штаммов. В дальнейшем вся работа по изучению физиолого-биохимических особенностей выполнена на этих культурах. Сведения об их происхождении представлены в табл. 1—3.

Наличие параспоральных кристаллов исследовалось микроскопией живых и окрашенных карболовым фуксином препаратов.

Результаты и обсуждение. Исследования нормальной и патогенной микрофлоры тутового шелкопряда, насекомых—вредителей сельского хозяйства, почвы и других субстратов, проводившиеся в Институте микробиологии с 1959 г., позволили выделить значительное число культур, относимых к группе *Bac. cereus-thuringiensis*.

В табл. 1 и 2 представлены данные о серотипах культур *Bac. cereus-thuringiensis*, обнаруженных в обследованных образцах из различ-

Таблица 1

Распространение различных серотипов *Bac. cereus-thuringiensis*

Места выделения	Констатиро- вание	Серотипиро- вано штаммов	Обнаружено штаммов серотипов										несероти- пируемые
			1	3	4	5	8	10	12	A	B		
Армения (равнинные районы)	+	91 35	4	2 1	3 16	28 1	4 4	31 2	—	7 2	6 9	6	—
Армения (горные районы)	+	9 7	—	—	2 4	6	—	1 1	—	—	—	—	—
Грузия (г. Тбилиси)	+	10	—	—	—	—	1	9	—	—	—	—	—
Северный Кавказ (Краснодарский и Ставропольский края)	+	1 10	—	—	1 2	—	—	—	—	—	—	—	—
Узбекистан (г. Коканд)	+	1 2	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—
РСФСР (Европейская часть)	+	6 3	2	—	—	1	—	1	—	—	2	—	—
РСФСР (Сибирь)	+	5	—	—	5	—	—	—	—	—	—	—	—
Китай	—	2	—	—	—	1	—	—	—	—	1	—	—
Всего <i>Bac. thuringiensis</i>	+	123	6	2	11	35	5	43	—	7	8	6	—
Итого <i>Bac. cereus-thuringiensis</i>	+	182	6	7	34	37	14	45	2	11	20	6	—

Природные источники выделения культур *Bac. cereus-thuringiensis*

Источники выделения	Кристаллообразование	Серотипировано штаммов	Обнаружено штаммов серотипов									
			1	3	4	5	8	10	12	A	B	несеротипируемые
Тутовый шелкопряд	+	73	3	1	5	20	3	29	—	5	3	4
	—	49	—	3	19	1	9	—	2	4	11	—
Подстилка с выкормки тутового шелкопряда	+	3	—	—	—	1	—	2	—	—	—	—
	—	2	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—
Насекомые—вредители сельского хозяйства	+	29	1	1	5	9	2	5	—	1	3	2
	—	2	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—
Медоносная пчела	+	2	—	—	—	1	—	—	—	1	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Лист шелковицы	+	16	2	—	1	4	—	7	—	—	2	—
	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—
Почва	—	5	—	2	1	1	—	—	—	—	1	—
Всего <i>Bac. thuringiensis</i>	+	123	6	2	11	35	5	43	—	7	8	6
Итого <i>Bac. cereus-thuringiensis</i>	+-	182	6	7	34	37	14	45	2	11	20	6

ных географических зон. В Армении выявлены представители серотипов 1, 3, 4, 5, 8, 10 и 12. Чаще всего обнаруживались культуры серотипов 10 и 5, реже 6 и 8 и совсем мало—1, 3, 12. Культуры тех же серотипов отмечены в образцах и из других районов (17). Номера штаммов указаны по коллекции культур Института микробиологии АН АрмССР.

Серотипируемыми оказались неэнтомогенные кристаллофоры и некристаллофоры, выделенные из листа шелковицы, а также *Bac. cereus*, изолированные из почвы. Не обнаружены культуры 2, 6, 7, 9, 11 серотипов. Следует особо отметить выявление в исследованном материале культур двух новых серотипов, условно обозначенных А и В [14], а также ряда культур, не серотипируемых ни одной из использованных 12 сывороток. Антисыворотками Н₁₃ и Н₁₄ культуры не серотипировались.

Приведенный материал свидетельствует о возможности выделения культур *Bac. cereus* неэнтомогенного происхождения, серологически гомологичных с культурами кристаллофоров *Bac. thuringiensis*.

Установленный факт серологической гомологичности культур *Bac. cereus* и *Bac. thuringiensis* представляется принципиально важным. Прежде всего он выявляет близкое родство этих видов, культуры которых практически не отличимы морфологически и обладают многими общими физиолого-биохимическими свойствами, а также отношением к литическому действию некоторых фагов [2]. В экологической трактовке это указывает на возможность утери кристаллообразования у культур *Bac. thuringiensis*, в особенности в условиях их обитания вне насекомых, что имеет важное практическое значение для работ по применению инсектицидов из этих бактерий.

В 1965 г. нами были приготовлены антисыворотки к трем штаммам—805, 811, 837, не серотипировавшимся ни одной из известных в то время восьми сывороток к культурам *Bac. thuringiensis*. Сыворотки этих штаммов оказались гомологичными. Серотипированием выявлено значительное число штаммов, реагирующих только на сыворотки указанных культур. В последующем коллекция эта пополнялась новыми штаммами, и их число в настоящее время составляет 45 культур.

В табл. 3 представлены сведения о географических зонах, источниках и времени выделения этих культур, а также характеристика их кристаллообразующей способности. Большинство культур выделено в Армении из тутового шелкопряда, что объясняется прежде всего объемом исследованных образцов. Тем не менее при небольшом числе других обследованных субстратов, культуры этого серотипа выявлены как из насекомых-вредителей, так и из эпифитной микрофлоры листа шелковицы.

Таблица 3

Происхождение и кристаллообразование культур, серотипируемых
II—антисывороткой *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*

Место выделения, происхождение	Источник выделения, оригинальное название	Кристаллообразование	№ штаммов	Год выделения, получения
Армения, равнинные районы	тутовый шелкопряд	+++	811	1962
			839, 841	1964
			880, 884, 887, 888, 889, 891	1965
		++	844, 853	1964
			879, 895, 919	1965
	подстилка с выкормки тутового шелкопряда	+	876, 896, 905, 918, 921	1965
		+++	875	1965
		++	873	1965
		—	641	1959
	лист шелковицы	+++	871, 893, 911	1965
		++	914, 915	1965
		+	917, 924	1965
	насекомые-вредители	+++	1079	1971
			1113	1972
		+	829	1963
		—	825	1963
Армения, горные районы	насекомые-вредители	+++	831	1963
Грузия	тутовый шелкопряд	+++	805	1961
			837	1963
			839, 957	1964
Узбекистан	тутовый шелкопряд	++	925, 926, 927, 928, 939	1963
		+	950	1959

В коллекции имеется всего один штамм из Узбекистана и один, полученный в 1972 г. от М. В. Яловицына (штамм 1096-3).

Учитывая, что большинство культур обнаружено в образцах из Армении и Грузии, т. е. в пределах Кавказа, в качестве типовой культуры был выбран штамм 805 *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* [5, 6].

Приводим общую характеристику культур этой разновидности.

Вегетативные клетки суточной культуры на МПБ—прямые палочковидные с закругленными концами, размером $1,0-1,1 \times 4-6$ мк (вариации $0,8-1,3 \times 2-7$ мк). Перитрихи; клетки активно подвижны в молодой культуре, расположены короткими, а в дальнейшем—длинными цепочками. При микроскопии живых неокрашенных клеток содержимое их обычно негетерогенное, с возрастом—грубозернистое. При окраске черным суданом внутри клеток выявляется множество жировых зерен, в молодых клетках они заполняют большую часть цитоплазмы.

Споры овальные, образуются в центральной части клеток, постепенно перемещаясь к полюсу. При этом спорангий не раздувается. В процессе споруляции внутри клеток рядом со спорой отмечается образование оптически плотного включения, имеющего форму ромба, которое четко выявляется в свободном виде после завершения споруляции в окрашенных карболовым фукином препаратах.

Величина спор у разных культур— $0,7-1,0 \times 1,2-1,6$ мк, ромбовидных параспоральных включений—в пределах $0,6-1,0 \times 1,2-2$ мк. Культуры бактерий характеризуются более постоянными размерами спор, чем кристаллов, размеры которых достаточно сильно варьируют у одного и того же штамма. В окрашенных препаратах, а также при электронной микроскопии, ромбовидные кристаллы имеют четко очерченные грани с острыми углами. Хорошо развиваются на обычных лабораторных средах, содержащих белковые соединения, а также на растительных и животных субстратах. На МПА образуют крупные, беловато-кремовые, плоские, зернистые колонии с ризонидными краями. Колонии в среду не врастают и легко снимаются петлей. На агаризованной среде с яичным желтком образуют розовые колонии; пигмент в среду не проникает. Желатин разжижают, молоко активно пептонизируют. Крахмал гидролизуют. Как правило, отмечается выраженный протеолиз на среде Лефлера. Все штаммы характеризуются гемолитической активностью. Лецитиназу образуют, уреазы и инвертазы обычно не обнаруживаются. Нитраты восстанавливают, ацетилметилкарбинол образуют, индол и сероводород не продуцируют.

Сбраживают с образованием кислот без выделения газа глюкозу, фруктозу, мальтозу, глицерин, целлобиозу. Ряд штаммов слабо усваивает арабинозу, галактозу; сахарозу—только один штамм. Не сбраживают рамнозу, ксилозу, лактозу, маннозу, раффинозу, инулин, сорбит, маннит, салицин. Усваивают цитраты и ряд других аммонийных солей органических кислот (молочной, бензойной, янтарной, фумаровой).

Все изученные культуры не требуют для своего развития наличия витаминов группы В, но нуждаются в присутствии ряда аминокислот [3]. Факультативные аэробы. Оптимум роста $35-37^\circ$.

Большинство изученных штаммов данной разновидности обладает антагонистическим действием по отношению к микроорганизмам, преимущественно грамположительным бактериям.

Довольно выражены антагонистические свойства к штаммам других серотипов группы *Bac. thuringiensis*, что может служить дополнительным критерием для дифференциации и систематического разграничения данной разновидности (табл. 4).

Таблица 1

Перекрестный антагонизм типового штамма 805 var. *caucasicus* с культурами других разновидностей *Bac. thuringiensis* (№ штаммов—по коллекции Ин-та микробиологии АН АрмССР)

№ п/п	Культуры продуцентов антибиотиков	Тест культуры (по № п/п)														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	<i>thuringiensis</i> 735	—	+	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—
2	<i>initimus</i> 738	+	—	+	—	+	—	—	+	—	+	—	+	—	—	—
3	<i>alesti</i> 741	+	+	+	—	+	—	—	+	—	+	+	—	—	—	—
4	<i>sotto</i> 1002	+	+	+	—	+	—	—	+	—	+	+	—	—	+	+
5	<i>dendrolimus</i> 1001	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
6	<i>Bac. tuviensis</i> 1006	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
7	<i>Kenya</i> 1010	+	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
8	<i>galleriae</i> 1000	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	<i>Bac. insectus</i> 1005	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	<i>entomocidus</i> 1003	—	+	+	—	+	—	—	+	+	—	+	—	—	+	+
11	<i>subtoxicus</i> 1004	+	+	+	—	+	—	—	+	+	+	—	—	+	—	+
12	<i>alzawai</i> 1009	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
13	<i>morrisoni</i> 1008	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—	+	+
14	<i>tolworth</i> 1007	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15	<i>caucasicus</i> 805	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Примечание: (+) наличие антибиотического действия; (—) отсутствие действий.

Результаты исследований коллекции из 45 культур новой разновидности, в соответствии с общепринятыми тестами, представлены в табл. 5. Для сравнения приведены данные штамма 1075 *Bac. thuringiensis* var. *darmstadiensis*. Для упрощения таблицы результаты представлены в виде положительной и отрицательной реакций, несмотря на значительное различие в их интенсивности.

Представленные результаты показывают, что почти половина штаммов по всем тестам сходна с описанной типовой культурой, составляя группу типичных штаммов, причем выделены они из различных источников и районов. Остальные штаммы отличаются от типичных одним или несколькими признаками. Выделяются группы, интенсивно образующие пигмент или совсем не образующие пигмента, один штамм, усваивающий сахарозу, три штамма—салицин, несколько штаммов, не усваивающих целлобиозу. Эти данные выявляют определенную вариативность признаков внутри разновидности *caucasicus*.

Особо следует отметить штамм 911, отличающийся отсутствием образования АМК, лецитиназы, пигмента, усваивающий салицин, проду-

№ штаммов (по ИНМИА)	АМК	ЛВР	Протеолиз	Ферментация угле- водов					Гидролиз крах- мала	Пигмент	Уреаза	Пленка
				сахароза	манноза	целлобиоза	салпин	эскулин				
805, 811, 831, 837, 839, 841, 853, 871, 873, 876, 880, 887, 893, 895, 905, 914, 915, 917, 918, 919, 924	+	+	+	—	—	+	—	+	+	+	—	—
844, 875	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	—
1079, 1096—3, 1113	+	+	+	—	—	—	—	+	+	++	—	—
828, 879, 884, 889, 891	+	+	+	—	—	+	—	+	+	++	—	—
896	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	—	—
888, 921	+	+	+	—	—	—	—	+	+	+	—	—
925, 926, 927, 939, 957	+	+	+	—	—	+	—	+	+	—	—	—
928, 950	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—
911	—	—	+	—	—	+	+	+	+	—	+	—
1075	+	—	+	—	—	—	—	+	+	—	—	—

Примечание: АМК—ацетилметилкарбинол, ЛВР—лецитинивителлиновая реакция.

пирующий уреазу. В отличие от всех изученных культур разновидности *caucasicus*, этот штамм продуцирует термостабильный экзотоксин [19], и вызывает гибель гусениц большой вошинной моли [16]. Он имеет общий антиген с культурами 10-го серотипа, но отличается рядом биохимических признаков, а также значительной фагочувствительностью [12].

Ряд штаммов, не образующих пигмента (925, 926, 927, 939, 957, 641, 928, 950, 825), приближается по этому свойству к разновидности *darmstadiensis*. Однако, в отличие от последнего, они продуцируют лецитиназу, неоднородны по ферментации целлобиозы и не продуцируют термостабильного экзотоксина. Во всех случаях отмеченные культуры являются нетипичными представителями *caucasicus*. Возможно, что их можно рассматривать как новые разновидности серотипа 10.

Таким образом, собственно разновидностью *caucasicus* следует считать группу из 35 штаммов, сравнительно идентичных по приводимым признакам (без учета степени интенсивности реакций), отличительной особенностью которых является образование пигмента.

В табл. 6 приведена сравнительная характеристика разновидности *caucasicus* с наиболее близкими разновидностями *Bac. thuringiensis*.

Сравнение данных показывает, что разновидность *darmstadiensis*, относящаяся к тому же 10-му серотипу, что и *caucasicus*, отличается отсутствием образования пигмента, отрицательной ЛВР, но продуцирует термостабильный экзотоксин. У разновидности *caucasicus* эти признаки

Дифференциальные особенности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*

Серотипы	Разновидности	АМК	ЛВР	Протеолиз	Ферментация углеводов				Гидролиз крахмала	Пигмент	Уреаза	Пленка	Экзотоксин
					сахароза	манноза	салицин	эскулин					
3а, 3в	kurstaki	+	+	+++	-	-	+	+++	++	+	++	-	-
3а	alesti	+	+	+++	-	-	-	++	++	++	-	-	-
10а	caucasicus	+	+	+++	-	-	-	++	++	++	-	-	-
10а, 10в	darmstadiensis	+	-	+++	-	-	-	++	++	-	-	-	+

противоположны. У разновидности *alesti* все приводимые тесты аналогичны *caucasicus*, различие имеется только в антигенном строении (серотип 3а). От разновидности *kurstaki*, серотипа 3а, 3в, имеются отличия и в биохимических свойствах (салицин, пигмент, уреазы).

Учитывая, что в основе внутривидовой дифференциации *Bac. thuringiensis* лежит серотипизация по жгутиковому антигену, культуры разновидностей *caucasicus* и *darmstadiensis* могут быть объединены в один общий серотип 10. Однако, как указывалось выше, в отличие от культур *darmstadiensis*, типичные штаммы *caucasicus* характеризуются образованием розового пигмента на средах с яичным желтком, наличием лецитиназы и отсутствием продуцирования термостабильного экзотоксина. Указанных дифференциальных признаков вполне достаточно для разграничения этих культур в отдельные разновидности. Сказанное подтверждается и результатами более тщательной серологической дифференциации по методу Кастаньяни, на основании которой указанные разновидности выделяются как отдельные подсеротипы серотипа 10 [8].

Следует подчеркнуть, что описание разновидности *caucasicus* было сделано раньше, чем разновидности *darmstadiensis* [21].

Приводимые результаты исследований культур серотипа 10 позволяют четко дифференцировать группу штаммов в самостоятельную разновидность *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 20.VI 1978 г.

ԲԻՊ ԲԱԿՏԵՐԻԱԿ ԻՆՍԵԿՏԻԳԻՄԱՅԻՆ ՊՐԵՊԱՐԱՏԸ

և *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS*

ԿՈՒԼՏՈՒՐԱՆԵՐԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱՌԱՆՁԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ

Է. Գ. ԱՅՐԻԿՅԱՆ, Լ. Ա. ՉԻԼ-ՀԱՈՐՅԱՆ

Տրված է *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* էնտոմոպաթոգեն սպորափոր բակտերիաների նոր ալլատեսակի հիման վրա ԲԻՊ բակտերիալ ինսեկտիցիդալին պրեպարատի ստեղծման համառոտ պատմությունը: *Bac.*

cereus-thuringiensis խմբին պատկանող 330 կոլտուրաների մորֆոֆիզիոլոգիական և սերոլոգիական հետազոտությունների հիման վրա շարադրված է այդ ալլատեսակի բնութագրումը և դասակարգումը:

BACTERIAL INSECTICIDE PREPARATION BIP AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS CULTURE

E. G. AFRIKIAN, L. A. CHIL-HAKOBIAN

The history of creation and practical use of new bacterial insecticide preparation BIP from new subspecies of entomopathogenous sporeforming bacteria *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* has been presented. The results of morpho-physiological and serological investigations of 330 cultures of this subspecies and its characteristics from other serotypes of *Bac. thuringiensis* have been summarized.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Акопян Г. М., Африкян Э. К., Туманян В. Г., Чил-Акопян Л. А., Назаретян Н. А. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.
2. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
3. Африкян Э. К., Авакян З. Г., Бобикян Р. А., Чилингарян К. О., Багдасарян С. Н. Тр. Ин-та микробиологии АН АрмССР, вып. 5, (XV), 171, 1972.
4. Африкян Э. К., Унанян В. А., Татевосян П. Е., Чил-Акопян Л. А., Симоныан Э. Г. Автор. свид. СССР, № 529211, 28.V.1976.
5. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. ДАН АрмССР, 47, 4, 227—230, 1968.
6. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А., Туманян В. Г. Автор. свид. СССР, № 237480, 1968, (с приорит. от 24.VI.1966).
7. Африкян Э. К., Чилингарян В. А., Чил-Акопян Л. А., Туманян В. Г., Бобикян Р. А., Геворкян С. Г. Биолог. ж. Армении, 22, 8, 3, 1969.
8. Зурабова Э. Р., Рыжкова А. С., Дубинина Г. П. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.
9. Раутенштейн Я. И., Круковская Г. Е., Блохина Г. П., Соловьева Н. Я. Микробиология, 41, 1, 177, 1972.
10. Раутенштейн Я. И., Соловьева Н. Я., Круковская Г. Е., Блохина Т. Б., Москаленко Л. Н., Филатова А. Д. Микробиология, 40, 3, 542, 1971.
11. Раутенштейн Я. И., Соловьева Н. Я., Блохина Т. П., Москаленко Л. Н., Хачатрян Л. С. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.
12. Саруханиян Л. Б., Туманян В. Г., Акопян Г. М. В сб.: Тр. Ин-та микробиол. АН АрмССР, вып. 5(XV), 155, 1972.
13. Чил-Акопян Л. А. Канд. дисс., Ереван, 1970.
14. Чил-Акопян Л. А. Тез. докл. V съезда Всес. микробиол. общ. Секция: Сист. микроорг., 35, 1975.
15. Чил-Акопян Л. А., Африкян Э. К., Исмаилова А. Ю., Киракосян И. А., Пучинян Л. П., Чилингарян К. О. В сб.: Вопр. микробиол. Тр. Ин-та микробиол. АН АрмССР, вып. 5(XV), 203, 1972.
16. Чил-Акопян Л. А., Багдасарян Л. В. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.
17. Чил-Акопян Л. А., Исмаилова А. Ю. Тез. сессии Закавказ. Совета по координ. научно-иссл. работ по защите раст. Ереван, 509, 1971.
18. Чил-Акопян Л. А., Киракосян И. А., Исмаилова А. Ю., Кочарян Ю. Л. Биолог. ж. Армении, 23, 6, 1970.
19. Чил-Акопян Л. А., Сейранян И. Б., Чилингарян В. А., Чилингарян К. О. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.
20. Barjac H. de, Bonnefoi A. Entomophaga, 7, 5, 1962.
21. Krieg A., Barjac H. de, Bonnefoi A. J. invertebr. pathol., 10, 2, 1968.

ОБ ОСОБЕННОСТЯХ ЛИЗОГЕНИИ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФАГАМ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* *VAR. CAUCASICUS*

Я. И. РАУТЕНШТЕЙН, Н. Я. СОЛОВЬЕВА, Т. Б. БЛОХИНА,
Л. Н. МОСКАЛЕНКО, Л. С. ХАЧАТРЯН

Установлено, что штаммы изученного серотипа *Bac. thuringiensis var. caucasicus* в лабораторных условиях спонтанно не образуют вирулентных мутантов умеренных фагов, что открывает большие перспективы для создания на их основе инсектицидных препаратов. Проведено электроно-микроскопическое исследование новых фагов этого вида.

Ключевые слова: фаг, бактериальный препарат.

Многолетние исследования советских и зарубежных ученых убедительно показали высокую эффективность и перспективность применения спороносных кристаллообразующих бактерий в борьбе с насекомыми—вредителями растений. Для изготовления энтомоцидных препаратов применяются, главным образом, спороносные бактерии вида *Bac. thuringiensis*.

Как известно, абсолютное большинство культур вида *Bac. thuringiensis* лизогенно, многие из них являются полилизогенными [2, 6, 7, 9, 10, 12, 14].

При производстве энтомоцидных препаратов часто наблюдается фаголизис производственных культур.

Существуют два источника занесения вирулентных фагов на производство. Основным из них являются лизогенные производственные культуры. Лизис в данном случае вызывается вирулентными мутантами умеренных фагов этих культур.

Причиной фаголизиса может также явиться инфицирование производственной культуры на одном из этапов изготовления энтомоцидных препаратов фагом, занесенным на производство извне. Следует учесть, что фаги, способные вызывать лизис культур вида *Bac. thuringiensis*, широко распространены в природе и встречаются во многих почвах [6]. Большей частью это полифаги, обладающие широким спектром литического действия и способные лизировать различные разновидности (серотипы) *Bac. thuringiensis*. Фаги из лизогенных культур весьма специфичны [10].

Борьба с фаголизисом в производственных условиях требует применения комплекса мероприятий.

В данной статье мы касаемся одного из важных мероприятий по борьбе с фаголизисом, а именно подбора культур, устойчивых к определенным фагам. Получение таких культур возможно двумя путями: экспериментально или селекцией из природных источников. Однако следует иметь в виду, что невозможно получить экспериментально, или выделить из природных источников культуры, устойчивые ко всем фагам, способным их лизировать. Это вполне понятно, так как одна и та же культура может лизироваться большим количеством активных против нее фагов, отличающихся друг от друга по морфологии частиц, серологическим свойствам, спектру литического действия, вирулентности и другим признакам. Это в полной мере относится к культурам *Bac. thuringiensis*. Поэтому мы считаем более правильным применение термина «получение культур, устойчивых к определенным фагам», чем широко применяемого, но не вполне правильного по существу термина «получение фагоустойчивых культур».

Известно, что экспериментальное получение культур, устойчивых к определенным фагам, возможно двумя принципиально различными способами: воздействием данным фагом и выделением устойчивых к нему вариантов из вторичного роста и воздействием мутагенных факторов. Этими методами удалось получить и успешно использовать в практических целях продуценты ряда биологически активных веществ, в особенности антибиотиков. Существует еще один источник получения активных и устойчивых к определенным фагам культур: выделение их из природных источников. Этот путь может быть успешно применен и при селекции культур энтомоцидных бактерий вида *Bac. thuringiensis*.

Выполненные нами исследования показали, что все встречающиеся в природных условиях культуры вида *Bac. thuringiensis*, хотя и являются лизогенными, но могут резко различаться по особенностям своей лизогении, свойствам содержащихся в них фагов и чувствительности к определенным фагам [11].

Так, культура *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, применяемая для изготовления препарата энтобактерина, легко образует вирулентные мутанты своих умеренных фагов как спонтанно, так и под влиянием антибиотика ванкомицина [10, 11].

Культуры *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*, применяемые для изготовления препарата дендробациллина, и *Bac. insectus*—продуцент препарата инсектина—отличаются тем, что у них спонтанное образование вирулентных мутантов их умеренных фагов в лабораторных условиях не наблюдалось, и они у них очень редко возникали при воздействии антибиотиком ванкомицином.

Фаги, выделенные из *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, лизировали только культуры данной разновидности, а фаги из *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus* были активны против этих культур и культур *Bac. insectus*, но не лизировали культуры других разновидностей *Bac. thuringiensis* [10].

Эти различия между культурами разных разновидностей *Bac. thu-*

ringiensis имеют большое теоретическое значение и могут быть успешно использованы в практических целях—в комплексе мероприятий по борьбе с фаголизисом.

В данной работе приводятся результаты изучения особенностей лизогении культур *Bac. thuringiensis* var. *causasicus* и чувствительность этих культур к фагам, содержащимся в лизогенных культурах других разновидностей *Bac. thuringiensis*.

Материал и методика. В работе были использованы три культуры *Bac. thuringiensis* var. *causasicus* (805, 811 и 837), полученные из коллекции микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР, и ряд культур других разновидностей *Bac. thuringiensis*, использованных в качестве возможных индикаторных культур при выявлении лизогении у *Bac. thuringiensis* var. *causasicus* и при изучении чувствительности других культур вида *Bac. thuringiensis* к разным фагам. В опытах применяли следующие фаги:

1. Д₁ и Д₄₉, выделенные при фаголизисе продуцента дендробациллина *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus* в производственных условиях;

2. 48к и 54к—вирулентные мутанты умеренных фагов *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*, полученные при воздействии на культуру антибиотиком гентамицином;

3. 1-97, выделенный при фаголизисе *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* шт. 1-97, в производственных условиях;

4. ряд вирулентных мутантов умеренных фагов разных культур *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, полученных воздействием на эти культуры антибиотиком ванкомицином.

Установление лизогенного состояния культур *Bac. thuringiensis* var. *causasicus* проводили следующим образом: культуры выращивали на качалке в пептонно-кукурузном бульоне (ПКБ) в течение 48 ч [8]. Через 24 и 48 ч в центрифугатах испытуемых культуральных жидкостей определяли наличие фага путем нанесения центрифугатов на свежеприготовленные газоны индикаторных культур на пептонно-кукурузном (ПКА) и мясо-пептонном (МПА) агаре.

Чувствительность культур к фагам определяли путем нанесения 1—2 капель суспензии исследуемого фаголизата на свежеприготовленные газоны опытных культур. При наличии на газоне тест-культур зон лизиса на местах нанесения фаголизата перевизуально устанавливали, вызываются ли они фагом. Титрование фагов проводили двуслойным методом. В качестве нижнего слоя применяли 1,5% ПКА, а верхнего 0,7% ПКА.

Препараты для электронной микроскопии готовили с помощью дифференциального центрифугирования при 3000 об/мин (30—40 мин) и 40000—50000 об/мин (1,0—1,5 ч). Препараты контрастировали 2%-ной фосфорновольфрамовой кислотой (ФВК) и просматривали в электронном микроскопе УЕМ-7 [5].

Получение антифаговых сывороток к опытным фагам проводили по Адамсу [1], нейтрализацию фагов антифаговыми сыворотками—в бульонной среде при 30° в ультратермостате.

Для выяснения возможности получения вирулентных мутантов умеренных фагов лизогенных культур были использованы антибиотики ванкомицин и гентамицин. Для этого на свежеприготовленные газоны опытных культур на МПА и ПКА наносили две капли определенных разведений антибиотика в стерильной дистиллированной воде. Чашки выдерживали при 28° и просматривали через 24 ч.

Участки газона, на которых наблюдались зоны лизиса или угнетение роста опытных культур, переносили в пробирки с мясопептонным бульоном. Наличие вирулентного фага устанавливали выделением его и последующим размножением на той культуре, на газоне которой он был выявлен.

Результаты и обсуждение. Первые опыты по изучению чувствительности культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* к фагам, активным против других разновидностей *Bac. thuringiensis*, нами (Хачатрян) были проведены в 1966 г. В этих опытах были использованы следующие фаги: фаг Д₁, выделенный при фаголизисе производственной культуры *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus* в производственных условиях; фаг П-2, выделенный и описанный Швецовой [15], и ряд фагов, выделенных из разных культур *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*.

Все три опытные культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* (805, 811 и 837) оказались устойчивыми к исследованным фагам.

Эти культуры были выделены и детально изучены Африкяном с соавторами [2—4]. На их основе были изготовлены препараты БИП-805, БИП-811 и БИП-837, которые оказались весьма эффективными в борьбе с вредными насекомыми.

В связи с этим мы сочли важным более детально изучить указанные культуры. Особый интерес для нас представляло изучение чувствительности культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* (805, 811, 837) ко всем имеющимся в нашем распоряжении фагам.

В таблице приведены данные о сравнительной чувствительности к опытным фагам, выделенным в различных условиях, культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* (штаммы 805, 811, 837); *Bac. thuringiensis* var. *sotto-dendrolimus* (170 штаммов); *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* (75); *Bac. insectus* (21); *Bac. thuringiensis* var. *alesti* (3 штамма).

Таблица

Чувствительность к фагам культур разновидностей *Bac. thuringiensis*

Разновидности, серотипы	Количество изученных культур	Фаги, выделенные при фаголизисе var. <i>dendrolimus</i> в производственных условиях		Вирулентные мутанты умеренных фагов культур var. <i>dendrolimus</i> , полученные под воздействием на культуру гентамицина (фаги 48к и 54к)	Фаг, выделенный при фаголизисе штамма 1—97 var. <i>galleriae</i>	Вирулентные мутанты умеренных фагов культур, полученные под воздействием ванкомицина (8 фагов)
		Д ₁ — специфичный фаг	Д ₁₂			
var. <i>caucasicus</i> (805, 811, 837)	3	—	—	—	—	—
var. <i>dendrolimus</i>	70	+	+	+	—	—
var. <i>galleriae</i>	75	—	—	—	+	+
Bac. <i>insectus</i>	21	+	+	+	—	—
var. <i>alesti</i>	3	—	—	—	—	—

Как видно из таблицы, культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* отличались устойчивостью к фагам, активным против других разновидностей *Bac. thuringiensis*. Такой же устойчивостью обладали также испытанные три культуры серотипа *alesti*.

Для выявления лизогенного состояния культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* были использованы в качестве возможных индикаторных 52 культуры вида *Bac. thuringiensis*, принадлежащие к следующим разновидностям: *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*—22 штамма, *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*—6, *Bac. insectus*—10, *Bac. thuringiensis* var. *alesti*—1, *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*—3, другие разновидности—10. На всех исследованных разновидностях *Bac. thuringiensis*, за исключением некоторых штаммов *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, выделить фаги из культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* не удалось. В отдельных опытах при нанесении культуральных жидкостей *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* штаммов 805, 811, 837 на газоны культур *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* на них появлялись зоны лизиса, из которых удалось выделить фаги. Так, из литических зон, появившихся на газоне культуры *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* штамма 3/3, после нанесения культуральной жидкости *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* шт. 837 было выделено 4 фага, различающихся по морфологии негативных колоний. Эти фаги были исследованы в электронном микроскопе, а также серологически.

По антигенным свойствам выделенные фаги распределялись в три группы, по морфологии своих частиц—в две.

К первой группе относился один фаг, который отличался оригинальностью структуры своих частиц. Частицы этого фага имели головку удлиненной формы размером около 700×500 А и короткий отросток длиной около 400—500 А. У основания отростка—пластинка, напоминающая воротничок с зубцами (рис. 1).

Остальные фаги идентичны по структуре своих частиц. Они имели головку гексагональной формы размером 500—550 А в диаметре и гибкий длинный отросток с несокращающимся чехлом. Длина отростка около 1800 А (рис. 2).

Как уже отмечалось нами, лизогенные культуры *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* в отличие от других разновидностей сравнительно легко образуют спонтанно и при воздействии ванкомицином вирулентные мутанты своих умеренных фагов. Далее нами было показано, что при нанесении на газон *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* фаголизата фага, специфичного только для культур *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*, в ряде случаев возникают литические зоны. Было показано, что эти зоны вызваны не тем фагом, которым воздействовали, а вирулентными мутантами умеренных фагов культуры *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* [12]. При этом выделялся фаг, специфичный для *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*, который по морфологии частиц был идентичен фагу с оригинальной структурой, показанной на рис. 1. Фаги с подобной структурой частиц выделялись нами при воздействии на культуру *Bac. thuringiensis* var. *galleriae* ванкомицином. Частицы такой же морфологии наблюдались у вирулентных мутантов умеренных фагов *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, возникающих спонтанно.

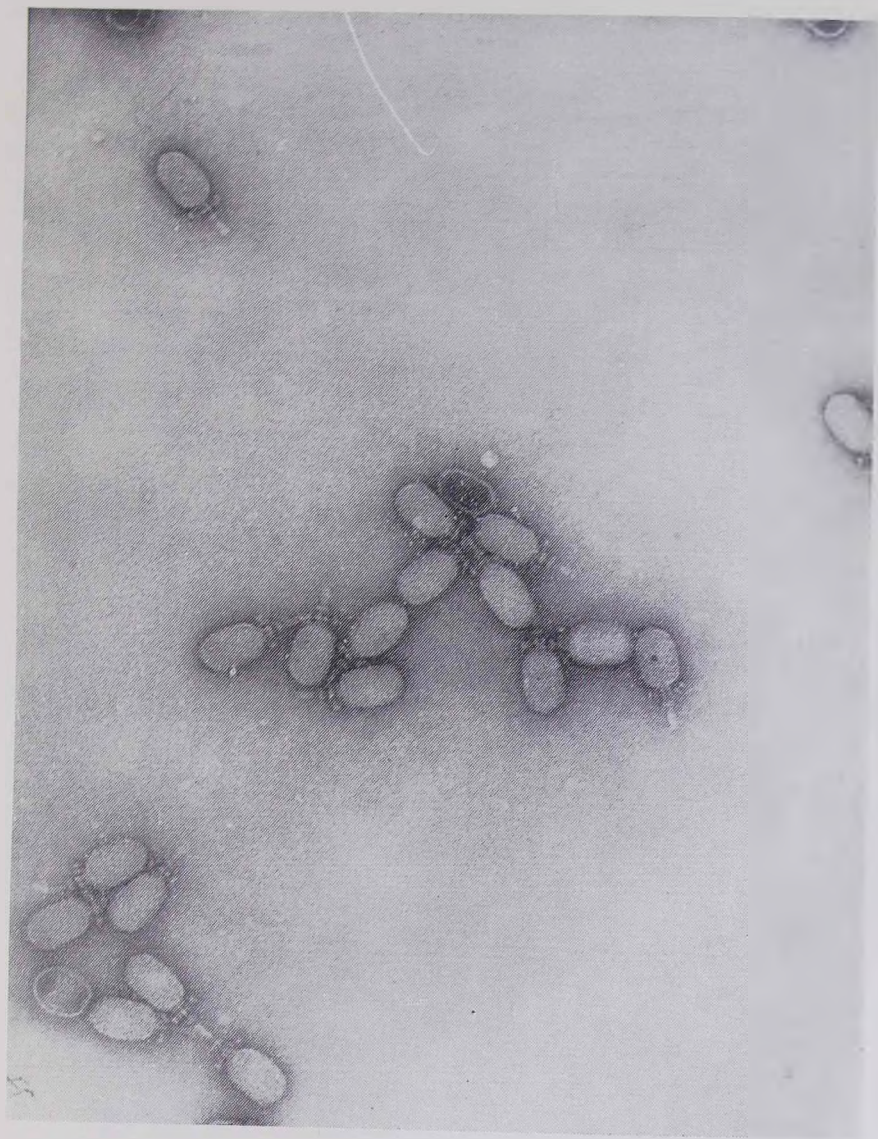


Рис. 1. Фаг культуры *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*. Увел. 150000.

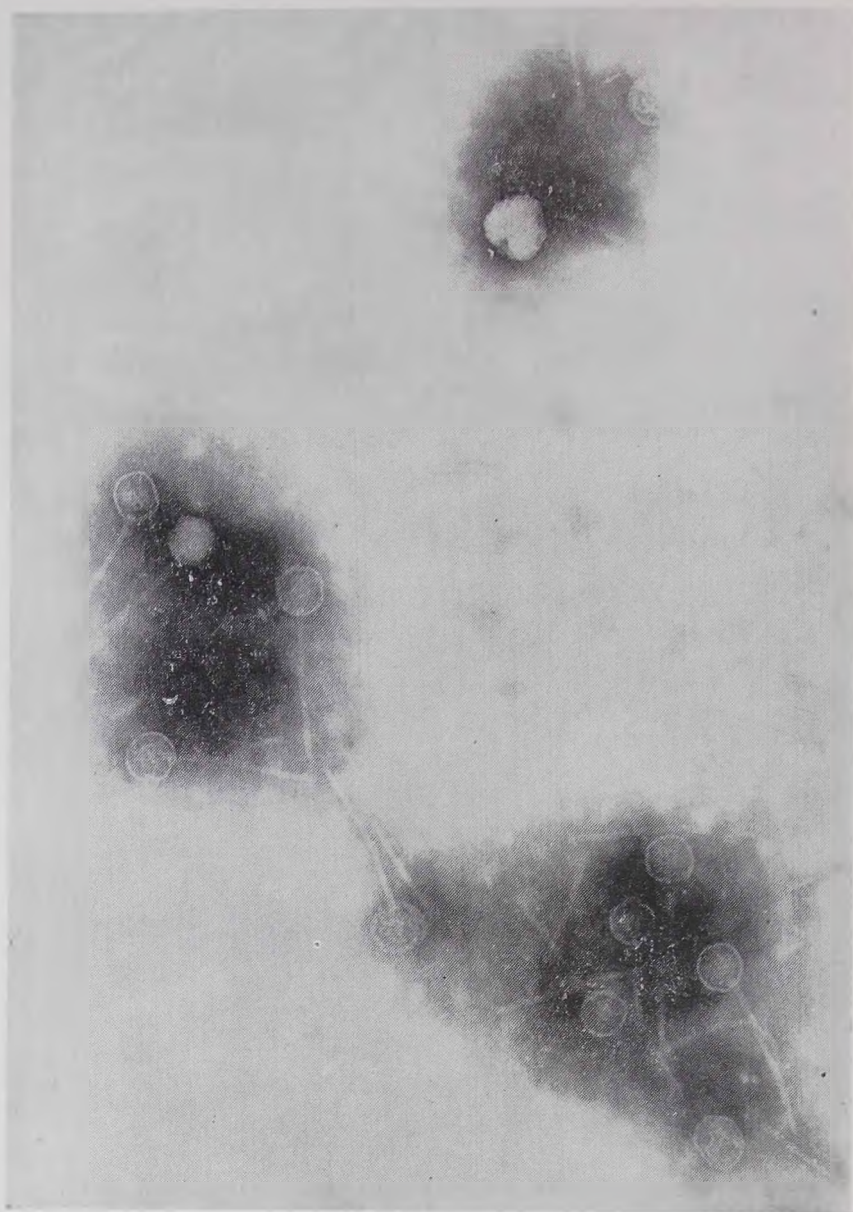
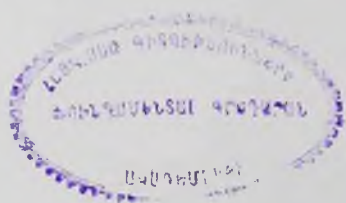


Рис. 2. Фаг культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Увел. 150000.



Вполне естественно, что перед нами возник вопрос, не являются ли фаги с оригинальной структурой частиц (рис. 1) вирулентным мутантом умеренного фага культуры *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*, примененной в качестве индикаторной, а не умеренным фагом *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* 837.

Электронномикроскопическим исследованием было установлено, что в культуральных жидкостях *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* штаммов 805, 811, 837 обнаруживаются фаговые частицы, идентичные по своей морфологии фагу, показанному на рис. 2.

Важно отметить, что в культуральной жидкости всех исследуемых культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* ни разу не были обнаружены фаговые частицы с морфологией, свойственной фагам, содержащимся в лизогенных культурах *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*.

Полученные данные показывают, что культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* являются лизогенными.

Был проведен ряд опытов, направленных на выяснение возможности экспериментального получения вирулентных мутантов умеренных фагов культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. С этой целью мы использовали акридин оранжевый и различные антибиотики (ванкомицин, брунеомицин, риентомицин и гентамицин). Однако вирулентных мутантов умеренных фагов из данных культур получить не удалось.

Следовательно, культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* отличаются тем, что у них в лабораторных условиях не наблюдалось спонтанного образования вирулентных мутантов. Последние не возникали у этих культур при воздействии антибиотиком ванкомицином, вызывающим возникновение вирулентных мутантов фагов культур *Bac. thuringiensis* var. *galleriae*.

Следует иметь в виду, что при массовом размножении некоторых разновидностей вида *Bac. thuringiensis*, как, например, *Bac. thuringiensis* var. *dendrolimus*, у которых образование вирулентных мутантов фагов в лабораторных условиях наблюдалось очень редко, имел место фаголизис, вызванный вирулентными мутантами их умеренных фагов.

Поэтому вполне возможно, что это явление может иметь место и при массовом размножении культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Это обстоятельство следует иметь в виду в производстве инсектицидных препаратов из культур бактерий данной разновидности.

Не исключено также и то, что фаголизис этих культур в заводских условиях может быть вызван фагами, инфицировавшими культуру извне, т. е. происходящими из почвы. Наличие в некоторых почвах фагов, способных лизировать культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, нами неоднократно устанавливалось. Тем не менее полученные данные об особенностях культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* имеют большое теоретическое и практическое значение.

Во-первых, культуры этой разновидности могут быть успешно применены в борьбе с фаголизисом. Они должны быть включены в коллекцию заводских культур для использования их при необходимости заме-

ны одной культуры, чувствительной к определенному фагу, другой, устойчивой к нему (чередование культур).

Во-вторых, представленные данные показывают, что одним из эффективных методов борьбы с фаголизисом при производстве энтомопатогенных препаратов является селекция из природных источников активных культур, различающихся по биологии содержащихся в них фагов, а также по чувствительности к наиболее часто встречающимся на производстве фагам.

Несомненно, что в этом отношении природные ресурсы далеко не исчерпаны.

Институт микробиологии АН СССР, Москва

Поступило 17.V 1977 г.

BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS
ԿՈՒՆՏՐԱՆԵՐԻ ԶԳՆՈՒՆՈՒԹՅՈՒՆԸ ՖԱԳԵՐԻ ԵՎ ԼԻԶՈԳԵՆԻԱՅԻ
ԵՐԵՎԱՆԻՅԻ ԱՌԱՆՁԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎԵՐԱՔԵՐՅԱԼ

Յա. Ի. ՌԱՍԻՏԵՆՇԵՅՆ, Ն. Յա. ՍՈԼՈՎՅՈՎԱ, Տ. Բ. ԲԼՈԽԻՆԱ,
Լ. Ն. ՄՈՍԿԱԼԵՆԿՈ, Լ. Ս. ԽԱՉԱՏՐԻԱՆ

Հաստատված է, որ ուսումնասիրված ենթատեսակի շտամները լաբորատոր պայմաններում չեն առաջացնում ֆագերի վիրուլենտ մուտանտներ, որն ընդգծում է այդ բակտերիաների մեծ հեռանկարները նրանց հիման վրա ինսեկտիցիդային պրեպարատների արտադրության ուղղությամբ:

Ուսումնասիրված են մի շարք ֆագեր, որոնք ստացված են նշված տեսակի բակտերիաներից:

ON THE PECULIARITIES OF LYSOGENY AND SENSIBILITY
TO PHAGES OF CULTURES OF BACILLUS THURINGIENSIS
VAR. CAUCASICUS

Ya. I. RAUTENSHTEIN, N. Ya. SOLOVYEVA, T. B. BLOKHINA,
L. N. MOSKALENKO, L. S. KHACHATRIAN

Bac. thuringiensis var. *caucasicus* cultures do not produce of virulent phages of temperate ones and are perspective strains for bacterial insecticide production. Different phages from some serotypes of *Bac. thuringiensis* have been isolated and investigated.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Адамс М. Бактериофаги. М., 1961.
2. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
3. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. ДАН АрмССР, 47, 4, 1968.
4. Африкян Э. К., Чилингарян В. А., Чил-Акопян Л. А., Туманян В. Г., Бобицян Р. А., Геворкян С. Г. Биолог. ж. Армении, 22, 8, 3, 1969.
5. Москаленко Л. Н., Раутенштейн Я. И. Микробиология, 33, 5, 489. 1969.
6. Паносян Л. Б. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1972.
7. Раутенштейн Я. И., Мисюрева Н. Г., Хачатрян Л. С. Микробиология, 33, 980, 1961.

8. Раутенштейн Я. И., Соловьева Н. Я. Микробиология, 32, 2, 252, 1963.
9. Раутенштейн Я. И. Сельскохозяйственная биология, 4, 499, 1967.
10. Раутенштейн Я. И., Соловьева Н. Я., Круковская Г. Е., Блохина Т. П., Москаленко Л. Н., Филатова А. Д. Микробиология, 40, 3, 542, 1971.
11. Раутенштейн Я. И., Круковская Г. Е., Блохина Т. П., Соловьева Н. Я. Микробиология, 41, 1, 177, 1972.
12. Раутенштейн Я. И., Москаленко Л. Н., Маранц Л. Л., Блохина Т. П. Микробиология, 43, 4, 902, 1974.
13. Хачатрян Л. С., Раутенштейн Я. И. Микробиология, 32, 5, 813, 1963.
14. Хачатрян Л. С. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1966.
15. Швецова О. И. Сб.: Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М., 1963.

ИЗУЧЕНИЕ РАЗНОВИДНОСТЕЙ СЕРОТИПА 10 ВИДА *BACILLUS THURINGIENSIS*

Э. Р. ЗУРАБОВА, А. С. РЫЖКОВА, Т. П. ДУБИНИНА

На основании серологического изучения с использованием антижгутиковых сывороток методом истощения по Кастеллини установлено антигенное различие у культур разновидностей *darmstadiensis* и *causicus*, предлагается характеристика их как представителей серотипа 10 по антигенной структуре: а—*causicus*, ab—*darmstadiensis*.

Ключевые слова: бациллы, микробиометод.

В основу классификации бацилл вида *Bac. thuringiensis*, как известно, положены их физиолого-биохимические и серологические свойства [9—12]. По данным Де Баржак и Бонфуа, в 1968 году у бацилл вида *Bac. thuringiensis* было известно 9 серологических групп. В том же году Криг, Де Баржак и Бонфуа [12] описали культуру, названную ими *Bac. thuringiensis* var. *darmstadiensis* и отнесенную к 10-му серотипу. Эта культура была выделена авторами из гусениц пчелиной огневки (*Galleria mellonella* L.). Одновременно Африкян и Чил-Акопян [1] из другого вида насекомых—гусениц тутового шелкопряда (*Bombyx mori* L.)—изолировали культуру, выделенную ими в новую разновидность *Bac. thuringiensis* var. *causicus*.

Первые серологические исследования этой культуры позволили установить, что по антигенному строению она отличается от известных 9-ти разновидностей культур вида *Bac. thuringiensis* [1, 2].

Позже Бурцева [5] в своей диссертационной работе показала, что культура разновидности *causicus* серотипируется антижгутиковой сывороткой 10-го серотипа и, следовательно, близка по антигенному строению к культуре *darmstadiensis*. Однако согласно данным Африкяна [3, 4], бациллы этой разновидности отличаются от культуры *darmstadiensis* по некоторым биохимическим свойствам: они образуют пигмент на желтке яйца, обладают сильной лецитиназной активностью и не продуцируют термостабильный экзотоксин.

Неодинаковая биохимическая активность кристаллообразующих культур одного и того же серотипа дала основание предположить, что они могут различаться также и по антигенному строению и, следовательно, представлять две разные разновидности.

Целью данного исследования было сравнительное изучение серологических свойств бацилл, объединяемых в серотип 10 вида *Bac. thuringiensis*.

Материал и методика. Объектами исследований явились две кристаллообразующие культуры—*darmstadiensis* и *caucasicus* (штамм 811). Первая получена нами из коллекции культур Института Пастера в Париже, вторая—Института микробиологии АН Армянской ССР.

Для изучения антигенного строения исследуемых культур были приготовлены две антижгутиковые сыворотки, полученные путем иммунизации кроликов по схеме Де Баржак и Бонфуа [9]. Кроме того, в серологических исследованиях были использованы антисыворотки, истощенные по Каstellьяни. С этой целью каждую сыворотку адсорбировали антигенами другой культуры до полного ее истощения. При серотипировании применяли метод агглютинации на стекле.

Из физиолого-биохимических свойств исследовали протеолитическую, лецитиназную, гемолитическую, амилолитическую и уреазную активность культур, ферментацию углеводов, определяли их способность к образованию ацетилметилкарбинола, пигментообразование на коагулированном яичном желтке, свернутой сыворотке крови и ломтиках картофеля. Эти свойства наиболее характерны для энтомопатогенных бацилл и обычно используются для их идентификации в цитированных выше работах.

При определении фагочувствительности исследуемых культур применяли бактериофаги, описанные Раутенштейном [7].

Результаты и обсуждение. В табл. 1 приведены результаты перекрестной агглютинации при применении антижгутиковых сывороток к культурам *darmstadiensis* и *caucasicus*.

Т а б л и ц а 1

Перекрестная агглютинация при применении антижгутиковых сывороток к двум культурам серотипа 10

Антижгутиковые сыворотки к культурам	А н т и г е н ы	
	<i>darmstadiensis</i>	<i>caucasicus</i>
<i>darmstadiensis</i>	12 800	12 800
<i>caucasicus</i>	6 400	6 400

Как видно из данных таблицы, антисыворотка в отношении культуры *darmstadiensis* дает положительную реакцию агглютинации в разведении 1:12800 с антигенами культур *darmstadiensis* и *caucasicus*. Сыворотка к культуре *caucasicus* также агглютинирует в одном титре (1:6400) с антигенами обеих культур. Это подтверждает их серологическое родство и общую принадлежность к 10-му серотипу.

Более детальное изучение антигенного строения этих культур проводили с помощью истощенных антисывороток.

Из данных табл. 2 следует, что исследуемые культуры в антигенном отношении не однородны. Так, антисыворотка в отношении культуры *caucasicus* полностью истощается антигенами бацилл *darmstadiensis*. Это происходит тогда, когда набор антител в сыворотке беднее или полностью соответствует набору антигенов в культуре, используемой при истощении сыворотки. Несколько иные результаты были получены при истощении антисыворотки к культуре *darmstadiensis* антигенами культуры *caucasicus*.

Перекрестная агглютинация при применении истощенных сывороток
к культурам серотипа 10

Сыворотка к культурам	Насыщение сыво- роток антигенами	А н т и г е н ы	
		causicus	darmstadiensis
causicus	darmstadiensis	0	0
darmstadiensis	causicus	0	800—1600.

В этом случае полного истощения сыворотки достигнуть не удалось, что свидетельствует о наличии у антисыворотки культуры *darmstadiensis* большего набора антител, чем способна адсорбировать культура *causicus*. Следовательно, набор антигенов у культуры *darmstadiensis* больше, чем у культуры *causicus*. Это дает основание предположить, что исследуемые культуры имеют следующую антигенную формулу:

- a—культура *causicus*
ab—культура *darmstadiensis*

Приведенные нами сравнительные исследования физиолого-биохимических свойств культур разновидностей *darmstadiensis* и *causicus* подтвердили данные Э. К. Африкяна. Исследуемые бациллы обладали одинаковой ферментативной активностью и слабой патогенностью для гусениц пчелиной огневки (*Galleria mellonella*). По нашим наблюдениям, обе культуры были устойчивы к фагам 1-97, Д-1, Д-49, и G-3, G-8 и чувствительны к фагу G-1 (табл. 3).

Таблица 3

Сравнительное изучение свойств двух кристаллообразующих культур серотипа 10 вида *Bac. thuringiensis*

Культуры	Чувствительность к фагам		Образование пигмента на:		Зоны гемо- лиза типа β—1, мм
	1—97, Д—1, Д—49, G—3, G—8	G 1	свернутой сыворотке крови	ломтиках картофеля	
darmstadiensis	—	+	—	—	0,5
causicus	—	+	+	+	2,5—3

Условные обозначения: (+)—чувствительность к фагу, или наличие пигмента;
(—)—устойчивость к фагу, или отсутствие пигмента.

В то же время были выявлены дополнительные различия в свойствах изучаемых бацилл. Так, оказалось, что культура из тутового шелкопряда образует розовый пигмент не только на коагулированном

желтке яйца, но и на свернутой сыворотке крови и ломтиках картофеля. Заметные отличия наблюдали также при исследовании гемолитических свойств бацилл. Отмеченные физиолого-биохимические особенности изучаемых культур показаны в табл. 3.

Различие в физиолого-биохимических свойствах и установленное нами неодинаковое антигенное строение исследуемых бацилл дают основание считать культуру caucasicus новой разновидностью серотипа 10 вида *Bac. thuringiensis*.

Антигенная формула разновидностей серотипа 10 может быть представлена в следующем виде:

10a — *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*,

10a и 10b — *Bac. thuringiensis* var. *darmstadiensis*.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
прикладной микробиологии, Москва

Поступило 4.II 1978 г.

BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ ՍԵՐՈՏԻՊ 10-Ի ՏԱՐԱՏԵՍԱԳՆԵՐԻ ՌԻՍՈՒՄՆԱՄԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Է. Բ. ԶՈՒՐԱՅՈՎԱ, Ա. Ս. ՐԻԺԿՈՎԱ, Տ. Պ. ԴՈՒԲԻՆԻՆԱ

Սերոլոգիական ուսումնասիրության հիման վրա Կաստելյանիի մեթոդով հակամարակային հյուծվածների շիճուկների կիրառությամբ, որոշված է անթիգենային տարբերությունը *darmstadiensis* և *caucasicus* կուլտուրաների մոտ: Առաջարկվում է նրանց բնութագրումը որպես 10 սերոտիպի ներկայացուցիչների ըստ անթիգենային կառուցվածքի՝ a—*caucasicus*, ab—*darmstadiensis*.

STUDY OF BACILLUS THURINGIENSIS SEROTYPE 10 SUBSPECIES

E. R. ZURABOVA, A. S. RIZHKOVA, T. R. DUBININA

Using saturation technic the differentiation of antigen structure between *caucasicus* and *darmstadiensis* has been established. According to data received it is proposed to evaluate antigen structures of investigated subspecies of serotype 10 as follows a — *caucasicus*, ab — *darmstadiensis*.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. ДАН АрмССР, 4, 227, 1968.
2. Африкян Э. К., Чилингарян В. А., Чил-Акопян Л. А., Туманян В. Г., Бобилян Р. А., Геворкян С. Г. Биолог. ж. Армении, 22, 3, 1969.
3. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
4. Африкян Э. К. Успехи микробиологии, вып. 10, 142, 1975.
5. Бурцева Л. И. Автореф. канд. дисс., Новосибирск, 1970.

6. Раутенштейн Я. И., Москаленко Л. И., Маранц Л. Л., Блохина Т. П. Микробиология, 43, 4, 732, 1974.
7. Хачатрян Л. С., Раутенштейн Я. И. Микробиология, 32, 5, 813, 1963.
8. Barjac H. de, Bonnefoi A. Entomophaga, 7, 5, 1962.
9. Barjac H. de, Bonnefoi A. J. Invertebr. Pathology, 11, 335, 1968.
10. Barjac H. de, Bonnefoi A. J. Invertebr. Pathology, 20, 2, 212, 1972.
11. Barjac H. de, Bonnefoi A. Entomophaga, 18, 5, 1973.
12. Krieg A, de Barjac H., Bonnefoi A. J. Invertebr. Pathology, 10, 2, 428, 1968.

МЕТОД БИОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ ПРЕПАРАТА БИП

Л. П. СЕНИЦЫНА, Н. А. ОСТРОГСКАЯ, А. П. БИРЮКОВА, Л. К. НОВИКОВА

Разработан метод биологического определения инсектицидной активности препарата БИП с использованием в качестве тест-насекомого гусениц непарного шелкопряда.

Ключевые слова: бактериальный препарат, микробиометод.

Метод биологической оценки препарата БИП, состоящего из спор, кристаллических включений, наполнителя, включает определение титра жизнеспособных спор и биологической активности.

Для определения титра жизнеспособных спор готовят ряд последовательных разведений препарата на стерильном растворе желчи в дистиллированной воде. Высев производят под стерильный агар в чашки Петри. Для этого 1 г препарата, взвешенного с точностью до 0,01 г, помещают в колбу микроразмельчителя типа РТ-2. Затем в колбу наливают 50 мл 0,5%-го стерильного раствора желчи и перемешивают в течение 2-х минут при 3000 об/мин, после чего колбу доливают до 100 мл раствором желчи (разведение 10^{-2}) и смесь осторожно перемешивают стеклянной палочкой. Для посева в чашки Петри берут суспензию восьмого (10^{-8}) и девятого (10^{-9}) разведений. Из каждого разведения засевают по пять чашек Петри следующим образом: по 1 мл суспензии, взятой стерильной пипеткой для каждого разведения, помещают в центр каждой чашки, затем чашки заливают стерильным расплавленным и охлажденным до 40—50° питательным агаром. Суспензию с агаром тщательно перемешивают путем круговых движений на гладкой поверхности стола. После застывания агара чашки помещают в термостат при температуре 28—30°. Подсчет выросших колоний производят через 36 ч.

Качественная оценка и стандартизация энтомопатогенных препаратов возможна при наличии относительно стандартных насекомых в определенном физиологическом состоянии.

Массовое разведение насекомых складывается из ряда последовательных мероприятий: выбора и первичной оценки популяции в природе, обеззараживания природного материала в целях предотвращения заболеваний при искусственном культивировании, выбора и приготовления питательных сред и технологии выкармливания [5].

В качестве тест-насекомого для биооценки препарата БИП отобран непарный шелкопряд *Porthetria dispar* L. Техника круглогодич-

ного выкармливания однородных гусениц. в овою очередь включает поддержание линии маточной культуры (воспроизводителя) и линии массового разведения. Разработанные питательные среды для непарного шелкопряда не обеспечивают получения маточной культуры, поэтому для этого вида важны вопросы хранения яйцекладок, собранных в природе, и режим реактивации диапаузы.

При выборе популяций из природы необходимо учитывать фазу градации очага [1, 2] и первичную характеристику популяции в нем. По плодовитости и среднему весу яиц судят о жизнеспособности популяции. Следует отдать предпочтение латентной фазе развития очага, т. е. фазе нарастания численности, когда вес яйца наибольший (0,85—0,9 мг) и количество яиц в кладке от 350 до 1000 штук [2, 5].

Первичную оценку популяции на предмет инфицирования дает люминесцентный метод [6]. Здоровые яйца имеют яркое фиолетово-голубое свечение, неоплодотворенные—зеленовато-желтое, паразитированные и больные яйца люминесцируют голубовато-серым цветом.

Собирать яйца следует в конце сентября—октября, когда эмбрион закончил развитие и началась диапауза. Кладки соскабливают со стволов деревьев и складывают в полиэтиленовые мешки; затем их расфасовывают в бумажные пакеты небольшими партиями и помещают в тех же полиэтиленовых мешках в холодильник при температуре +2—3°. Для ускорения прохождения диапаузы нужно количество кладок яиц ставят в морозильное отделение холодильника (—10—12°) на 30 дней, а общую массу яиц хранят при постоянном режиме (2°), обеспечивающем высокую выживаемость в течение 14 месяцев.

В целях профилактики заболеваний, возникающих при разведении насекомых в искусственных условиях на ограниченном пространстве, применяется комплексный метод обеззараживания яиц [3]. Навески яиц освобождаются от пушка путем легкого трения о капроновую сетку на ветру. Затем яйца в капроновых мешочках под тяжестью груза помещаются в водный раствор марганцево-кислого калия 0,1% концентрации на 5—6 мин, после чего подвергаются 4-кратному промыванию в дистиллированной воде. Слегка обсушенные фильтровальной бумагой яйца помещаются в чашки Петри на фильтровальную бумагу и выдерживаются в термостате в течение 3—5 мин при 50°. Далее, на дно чашки Петри в заранее вырезанный сектор фильтровальной бумаги кладется влажный тампон так, чтобы он не касался краев бумаги. Яйца инкубируются при температуре 19—22°.

Для проверки яиц на готовность к инкубации берется их навеска в 75—80 мг (около 100 шт, очищенных от пушка, обеззараженных) и через 5—10 дней производится подсчет отродившихся гусениц. При выходе 70—90% гусениц данную партию яиц можно использовать для массового разведения.

Для приготовления искусственной питательной среды используется следующий состав компонентов: набухшие семена фасоли—200 г, агар—15 г, фоллиевая кислота—10 мг, сахара—12 г, сухие пивные

медицинские дрожжи—15 г, масло льняное—2 см², метиловый эфир параоксибензойной кислоты—3 г, аскорбиновая кислота—4 г, фильтровальная бумага—8 г, K₂HPO₄—4 г, формалин 4%—90 капель, КОН—5,65 г.

Для получения массового количества гусениц очищенные от пушка, простерилизованные и промытые яйца раскладываются на листе фильтровальной бумаги и просушиваются при комнатной температуре в течение 30 мин. На дно чашки Петри кладется стерильная фильтровальная бумага с вырезанным сектором для влажного ватного тампона, который должен быть положен на стекло в месте выреза и не касаться фильтровальной бумаги. На бумагу помещается навеска яиц в 1 г, чашка Петри закрывается крышкой, яйца ставятся на отрождение при температуре 19—22°. Инкубационный период зависит от сроков и режима хранения яиц.

Посадку гусениц на корм производят только на 2—4-й дни после начала массового отрождения, когда гусеницы в массе сидят на яйцах, образуя «зеркальце». В конце первого дня массового отрождения гусениц на внутреннюю сторону чашки Петри (крышки) наносят искусственный корм.

Гусениц, приступивших к питанию (перешедших на корм в течение 12—24 ч), переносят вместе с крышкой в чистую чашку Петри. Для отсадки очередной партии гусениц чашку с отрожденными гусеницами покрывают новой крышкой с нанесенным на нее искусственным кормом. Отсаженных гусениц содержат по 150—200 штук в одном таком садке (чашке) и термостате или на стеллажах при температуре от 20 до 23°, достаточном освещении (не менее 16 ч в сутки) и относительной влажности воздуха не ниже 75%.

Отсаженные в садки гусеницы содержатся без смены корма в течение 10—12 дней до появления гусениц второго возраста. Отбор одноступенчатых гусениц второго возраста для оценки активности препарата проводят по величине головной капсулы. Ширина головной капсулы должна быть от 1,2 до 1,4 мм.

Для ежедневного получения 2000 гусениц второго возраста яйца на отрождение нужно ставить через день в количестве 6—7 г (декабрь—февраль) и 2 г (март—сентябрь).

Следует иметь в виду, что расчет нужно вести в зависимости от сезона, так как многие параметры меняются во времени: в зимние месяцы процент гусениц, приступивших к питанию, не выше 40, в ранние весенние (март—апрель)—приступает к питанию до 80%, в летние (с мая до сентября)—100%.

Метод биологической оценки активности препарата БИП основан на определении летальной концентрации препарата, вызывающей 50%-ную гибель тест-объекта (пробит-метод) при свободном поглощении корма гусеницами непарного шелкопряда. Для этого готовится параллельно водная суспензия опытного и стандартного препарата в четырех концентрациях (1,0; 0,1; 0,01; 0,001%), обеспечивающих гибель

тест-объекта от 0 до 100%. Каждая концентрация испытывается в трех повторностях. Суспензия готовится с помощью микроизмельчителя тканей РТ-2 при 3000 об/мин в течение 2-х мин.

Суспензия каждой концентрации испытуемого образца препарата БИП по 3 мл смешивается с 15 г тщательно перемешанного в фарфоровой ступке корма. Корм прикрепляется на крышку чашки Петри с внутренней стороны. В чашку Петри помещается 15 гусениц непарного шелкопряда второго возраста, приступивших к питанию. Одновременно с опытом ставится контроль в трех повторностях, причем в корм для контроля добавляется вместо суспензии 3 мл дистиллированной воды. Опыт проводится при температуре 22—23°. Учет гибели гусениц проводится на шестые сутки (табл.).

Таблица

Результаты учета гибели гусениц и куколок, инфицированных препаратом *Bacillus thuringiensis* var. *causicus*

№ модель- ных де- ревьев	Всего гусениц	И з н и х						Общий процент гибели
		погибли в стадии гусениц	осталось живыми	преврати- лись в ку- колки	не превра- тились в куколки	погибли в стадии куколок	вышли бабочки	
О п ы т								
1	2613	2194	419	389	30	276	113	90,5
2	1379	1057	323	281	42	205	76	90,7
3	1452	1161	291	285	6	210	75	92,1
7	1358	1066	292	291	1	203	88	90,5
88	1102	903	199	163	36	127	36	90,4
К о н т р о л ь								
4	105	5	100	91	9	3	88	7,6
11	813	8	805	710	95	21	689	3,5

Гибель гусениц (X) в процентах вычисляется отдельно для каждой концентрации с поправкой на гибель в контроле по формуле Аббота:

$$X = \frac{M_0 - M_k}{100 - M_k} \cdot 100, \text{ где}$$

M_0 —количество мертвых особей в опыте, % (среднее арифметическое из трех повторностей);

M_k —количество мертвых особей в контроле, % (среднее арифметическое из трех повторностей).

Если среднее значение процента гибели насекомых для каких-либо концентраций равно 0 или 100%, то делается пересчет по следующим формулам:

$$X_1 = \frac{0.25 \cdot 100}{n} - \text{для } 0\%,$$

$$X_2 = \frac{(n-0.25) \cdot 100}{n} - \text{для } 100\%, \text{ где}$$

n — число насекомых в данной концентрации.

Это дает возможность определить пробиты для данных значений процента гибели гусениц.

Коэффициент активности вычисляется путем сопоставления летальной концентрации (LK_{50}) опытной партии и стандартного препарата по формуле:

$$K = \frac{LK_{50} \text{ стандартного препарата}}{LK_{50} \text{ опытной партии}}.$$

Летальная концентрация препарата, необходимая для обеспечения 50% гибели гусениц, вычисляется по системе пробитов (способ Пригге).

Биооценка образцов опытных партий БИП (сухой препарат) показала, что величина LK_{50} для гусениц непарного шелкопряда колеблется в пределах 0,008—0,4%. LK_{50} стандартного препарата БИП при титре жизнеспособных спор не менее 30 млрд/г должна быть не выше 0,04%.

Препараты с указанным уровнем активности при испытании против вредителей винограда и садово-ягодных культур в условиях Кавказа показали, по данным Института защиты растений МСХ АрмССР, высокую активность.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
бактериальных препаратов и микробиологических
средств защиты растений, Москва

Поступило 11.X 1977 г.

ԲԻՊ ՊՐԵՊԱՐԱՏԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ՈՐՈՇՄԱՆ ՄԵԹՈԴ

Լ. Պ. ՍԻՆԻՅԻՆԱ, Ն. Ա. ՕՍՏՐՈԳՍԿԱՅԱ, Ա. Պ. ԲԻՐՅՈՒԿՈՎԱ,
Լ. Կ. ՆՈՎԻԿՈՎԱ

Porthertia dispar L. թրթուրների օգտագործմամբ մշակված է և առաջարկվում է ԲԻՊ պրեպարատների ինսեկտիցիդային ակտիվության որոշման կենսաբանական մեթոդ:

METHOD FOR BIOLOGICAL ASSAY OF THE PREPARATION BIP

L. P. SINITZINA, N. A. OSTROGSKAYA, A. P. BIRYUKOVA,
L. K. NOVIKOVA

The biological method for the determination of insecticide activity of the preparation BIP has been proposed using the larvae of *Porthertia dispar* L.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. *Воронцов А. И.* Биологические основы защиты леса. М., 1963.
2. *Воронцов А. И.* Лесная энтомология. М., 1967.
3. *Ильинский А. И., Тропин И. В.* Надзор, учет и прогноз массовых размножений хвое- и листогрызущих насекомых в лесах СССР. М., 1965.
4. *Злотин А. З.* Автореф. канд. дисс., Харьков, 1966.
5. *Ликвентов А. В.* Зоол. журнал, 34, 5, 1061, 1955.
6. *Орловская Е. В., Новикова Л. К.* Тез. докл. ВНИИбакпрепарат, М., 1972.
7. *Яфаева З. Ш., Ханисламов М. Т.* Сб.: Исслед. очагов вредителей леса Башкирии. Уфа, 1962.

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ
ПРИЗНАКИ КУЛЬТУР СЕРОТИПА 10
BACILLUS THURINGIENSIS

А. А. ХАЧАТУРЯН

На основании изучения физиолого-биохимических свойств культур серотипа 10 выявлена переменность признаков и неоднородность исследованных штаммов этого серотипа. Обнаружены дополнительные признаки, которые рекомендуются в качестве дифференциальных тестов для идентификации и разграничения разновидности *caucasicus* от культур серотипов *darmstadiensis* и *alesti*.

Ключевые слова: бактерии, систематика.

Принципы и методы идентификации энтомопатогенных спорообразующих бактерий вида *Bac. thuringiensis* основаны на изучении физиолого-биохимических свойств, серотипизации к жгутиковому антигену [1, 7—10] и специфике эстеразной активности культур [15]. В некоторых случаях этих признаков недостаточно, особенно для выявления биологической неоднородности культур внутри вида, в частности серотипов. Так, в 1975 г. де Баржак и Космоа-Дюмануа [11] опубликовали работу, в которой в качестве диагностических признаков для серотипов *Bac. thuringiensis* предложены хитинолитическая и липолитическая активность штаммов. Отсутствие образования термостабильного экзотоксина может служить дифференциальным признаком, отличающим разновидность *caucasicus* от разновидности *darmstadiensis* и серотипа 1 [4, 6].

В данном сообщении представлен материал для изыскания новых свойств культур в целях более четкой характеристики и дифференциации бактерий разновидности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Особое внимание уделено изучению переменности дифференциальных признаков этой и других разновидностей данного вида.

Материал и методика. Объектами исследований служили оригинальные культуры *Bac. thuringiensis*, выделенные из разных источников и отнесенные к разновидностям *caucasicus* (44 штамма) и *alesti* (12 штаммов). Культуры депонированы в коллекции культур микроорганизмов Института микробиологии АН АрмССР (ИНМИА). Происхождение и биологические свойства указанных культур представлены в работах Африкьяна и Чил-Акопян с соавт. [1, 2, 5]. В работе была использована также полученная от д-ра де Баржак из Института Пастера в Париже типовая культура серотипа 10, послужившая основой для описания разновидности *darmstadiensis* [14]—штамм ИНМИА 1075.

В процессе создания коллекции культур *Bac. thuringiensis* нами были изучены другие физиолого-биохимические свойства с использованием стандартных тестов (11 тест-

тов для 57 штаммов). предложенных Международным таксономическим и номенклатурным подкомитетом бацилл, описанных в книге Гордон с соавторами [13] и указанных в Определителе Берге [12].

Результаты и обсуждение. Результаты изучения физиолого-биохимических признаков, предложенных де Баржак в качестве дифференциального ключа для диагностики культур *Bac. thuringiensis* (7—10), выявили неоднородность штаммов серотипа 10.

Таблица I

Вариабельность дифференциальных физиолого-биохимических признаков
у штаммов серотипа 10

Признаки		По "ключу" де Баржак	Изучено штаммов	Расходятся от "ключа"	Штаммы, у которых признак расходится от "ключа"
АМК*		+	45	1	911
ЛВР**		+	45	2	911, 1075
Протеолиз		+++	45	—	
Пигментообразование		+	45	12	825, 911, 925, 926, 928, 939, 950, 957, 1075, 641 888, 921 — слабый пигмент
Уреаза		—	45	1	911
Гидролиз крахмала		+++	45	—	
Пленка		—	45	—	
Ферментации	сахарозы	—	45	1	896
	маннозы	—	45	—	
	целлобиозы	+	45	9	928, 950, 1075; 825, 888, 896, 1079, 1096—3, 1113— ферментация наступает на 7—14-й дни
	салицина	—	45	3	844, 875, 921
	эскулина	+++	45	8	+828, 831, 891, 914, 915, 925, 927, 928
				5	+917, 918, 926, 950, 957

* АМК—образование ацетилметилкарбинола. ** ЛВР—лецитино-вителлиновая реакция.

Данные табл. I показывают, что наибольшую вариабельность культуры обнаруживают при ферментации углеводов—сахарозы (1 штамм), салицина (3 штамма) и в особенности целлобиозы (9 штаммов, 6 из которых начинают усваивать целлобиозу лишь на 7-е сутки инкубации).

Признак пигментообразования отсутствует у 12-ти штаммов, причем у 2-х из них это свойство выражено слабо. Образование ацетона из глюкозы и уреазы отсутствуют у штамма 911, а лецитино-вителлиновая реакция—у того же штамма и у штамма 1075.

По тесту эскулина выделяются 13 штаммов, которые его слабо гидролизуют. В эту группу входят преимущественно те культуры, которые отличаются от остальных отсутствием пигментообразования.

В табл. 2 включены стабильные свойства, общие не только для штаммов серотипа 10, но и почти для всех культур вида *Bac. thuringiensis*. Исключение составляет штамм 888, у которого нет положительного признака денитрификации, видимо, в результате отсутствия необходимости использования нитратов в качестве доноров кислорода.

Таблица 2

Характерные стабильные свойства серотипа 10

№ штаммов по ИНИИА	Кристалло- образова- ние	Каталаза	Иммортаза	Редуктаза	Денитри- фикация	Образова- ние пиллола	Образова- ние серопо- лорода
805, 811, 825, 828, 831, 837, 839, 841, 844, 853, 871, 873, 875, 876, 879, 880, 884, 887, 889, 891, 893, 895, 896, 905, 911, 914, 915, 917, 918, 919, 921, 924, 925, 926, 927, 928, 939, 950, 957, 1079, 1096—3, 1113	+	+	—	+	+	—	—
888	+	+	—	+	—	—	—
641	—	+	—	+	+	—	—
1075	+	—	—	+	+	—	—

В табл. 3 отражены признаки культур 10-го серотипа, изученные по стандартным тестам Международного таксономического и номенклатурного подкомитета бацилл. Как видно из таблицы, отсутствие дезаминазы фенилаланина, тирозиназы, способность расти при 45° и образовывать энтомоцидные кристаллы при выращивании на среде с гипуратом Na и, наоборот, разложение казеина, разжижение коагулированной сыворотки, рост при pH среды 5,7 и в мясо-пептонном бульоне с 7% NaCl свойственны всем штаммам этого серотипа. Различия обнаруживаются при анализе тестов по усвоению лимонной и пропионовой кислот, которые выделяют группы культур, сходные с группами штаммов, родственных по другим дифференциальным признакам (АМК, ЛВР, пигментообразование, ферментация целлобиозы, са-лицина). Так, штаммы 911, 950 и 1075 указанные кислоты не усваивают, а штаммы 921, 924, 925, 926, 927, 928 и 939 и некоторые другие усваивают цитрат очень слабо.

Пропионат натрия штаммы данного серотипа в целом ферментируют слабее, чем цитрат, а штаммы 911, 950 и 1075, а также 841, 925 вновь выделяются из общей массы культур неспособностью к его усвоению.

Образование дигидроксиацетона из глицерина, изученное стандартным методом, характерно для всех штаммов, за исключением штамма 1075, являющегося разновидностью *darmstadiensis*, и штамма 641, не продуцирующего энтомоцидных кристаллов.

Полученные данные позволяют сделать вывод о неоднородности исследованных культур серотипа 10, выявленной дифференциальными

Дифференциальное значение дополнительных физиолого-биохимических признаков

№ штаммов по ИНМИА	Кристаллообразо- вание	Рост при			Усвоение			Образование			Разложение	
		7% NaCl	pH 5,7	45°	Na цитрата	Na гиппу- рата	Na пропио- ната	ДГА*	дезфена**	тирозины	казеина	коагулиро- ванной сы- воротки
805, 811, 825, 828, 831, 837, 839, 844, 853, 871, 875, 876, 879, 880, 887, 889, 893, 895, 896, 905, 957, 079, 1113, 1096—3	+	+	+	—	++	—	+	+	—	—	+	+++
841	+	+	+	—	++	—	—	+	—	—	+	+++
888	+	+	+	—	++	—	+	+	—	—	+	+++
921	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	+	+++
925	+	+	+	—	+	—	—	+	—	—	+	+++
873, 891	+	+	+	—	++	—	+	+	—	—	+	++
911, 950	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	+++
884, 914, 915, 917, 918, 919, 924	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	+	+++
926, 927, 928, 939	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—	+	+++
1075	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	+	+++
641	—	+	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+++

* ДГА—обозначение дигидроксацетона из глицерина, ** дезфен—дезаминиро-
вание фенилаланина.

Таблица 4

Диагностическое значение дополнительных физиолого-биохимических свойств
некоторых серотипов вида *Bac. thuringiensis*

Серотипы Тесты	alesti			caucasicus			darmstadiensis	
	реакция	изучено штаммов	% положи- тельных	реакция	изучено штаммов	% положи- тельных	реакция	изучено штаммов
Тирозиназа	+	12	50	—	45	100	—	1
Дезфена	—	12	100	—	45	100	—	1
ДГА	+	12	66,7	+	45	100	—	1
Цитрат натрия	+	12	100	+	45	93,6	—	1
Пропионат натрия	+	12	50	+	45	90,5	—	1
Гиппурат натрия	—	12	91,7	—	45	100	—	1
pH 5,7	+	12	100	+	45	100	+	1
7% NaCl	—	12	91,7	+	45	100	+	1
45°	—	12	100	—	45	100	—	1

признаками по ключу де Баржак и подтвержденной дополнительными тестами. Указанное дает основание предположить наличие также и серологического различия между ними. Об этом свидетельствуют результаты исследований Зурабовой с сотр. [3], касающихся 2-х штаммов этого серотипа (811 и 1075), которые отнесены ими по жгутиковому антигену к разновидностям соответственно 10a—caucasicus и 10a 10b — darmstadiensis.

Сравнение данных по изучению дополнительных физиолого-биохимических свойств культур серотипа 10 с культурами пигментообразующей разновидности серотипа 3 alesti (табл. 4) указывает на возможность применения ряда признаков в качестве дополнительных критериев диагностики. Прежде всего следует отметить тест — рост в среде с 7% NaCl. Рост культур разновидностей caucasicus и darmstadiensis в мясо-пептонном бульоне с 7% хлористого натрия позволяет отличить их от культур разновидностей alesti, во многом сходных с caucasicus, но не растущих в указанной среде.

Неспособность образования дигидроксиацетона вместе с другими тестами (отсутствие пигментообразования и ЛБР) может служить основанием для отличия штаммов разновидности darmstadiensis от культур caucasicus и alesti.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 13.I 1978 г.

BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ 10-ՐԴ ՍԵՐՈՏԻՊԻ ԿՈՒՆՏՐԱՆՆԵՐԻ ԼՐԱՑՈՒՑԻՉ ՅԵՂԻՈԼՈԳԻՈՒ-ԲԻՈԳԵՄԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿԱՆԵՇՆԵՐԸ

Ա. Ա. ԽԱՉԱՏՐԻԱՆ

Հայտնաբերված է *Bac. thuringiensis* տեսակի 10-րդ սերոտիպին պատկանող բակտերիալ շտամների բիոքիմիական հատկանիշների փոփոխականությունը *Caucasicus* և *darmstadiensis* ենթատեսակների որոշման համար առաջարկվում է որոշ լրացուցիչ, տարբերիչ տեստեր, ինչպես օրինակ աճը 7% նատրիում քլորիդի վրա, դիհիդրօքսիացետոնի առաջացումը և այլն:

ADDITIONAL PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL PROPERTIES OF SEROTYPE 10 OF BACILLUS THURINGIENSIS

A. A. KHACHATURIAN

Variability of biochemical properties of strains within 10 of *Bac. thuringiensis* has been revealed. Some additional differential tests for identification of caucasicus and darmstadiensis subspecies are proposed such as the growth in 7% of sodium chloride, formation of dihydrooxiaceton and some others.

Լ Ի Ե Ր Ա Տ Ր Ա

1. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
2. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. Биолог. ж. Армении, 33, 4, 1980.

3. Зурабова Э. Р., Рыжкова А. С., Дубинина Т. П. Биол. ж. Армении, 33, 4, 1980.
4. Строева И. А. Автореф. канд. дисс., Л., 1972.
5. Чил-Акопян Л. А., Африкян Э. К., Исмаилова А. Ю., Киракосян И. А., Пучинян Л. П., Чилингарян К. О. В сб.: Вопросы микробиологии. Микробные метаболиты, вып. V (XV), 203—227, 1972.
6. Чил-Акопян Л. А., Сейранян И. Б., Чилингарян В. А., Чилингарян К. О. Биол. ж. Армении, 33, 4, 1980.
7. Barjac H. de, Bonnefoi A. Entomophaga, 7, 1, 1962.
8. Barjac H. de, Bonnefoi A. Y. Invertebr. Pathology, 11, 335, 1968.
9. Barjac H. de, Bonnefoi A. Ann. Inst. Pasteur, 122, 3, 1972.
10. Barjac H. de, Bonnefoi A. Entomophaga, 18, 1, 1973.
11. Barjac H. de, Cosmoa-Dumanolr V. Entomophaga, 20, 1, 1975.
12. Berge's Manual of Determinative bacteriology (8^e ed), Williams and Willkins Co. Baltimore, 1974.
13. Gordon R. E., Haynes W. C., Pang C. H. The genus Bacillus. Washington D. C. 1973.
14. Krieg A., de Barjac H., Bonnefoi A. Y. Invertebr. Pathology, 10, 2, 1968.
15. Norris Y. R. Proc. XXII Int., Congr. Ent. London, (1964), 1965.

ВЛИЯНИЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ НА ВАЖНЕЙШИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ *BAC. THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS*

А. А. ХАЧАТУРЯН, Р. А. БОБИКЯН, Т. А. МАТИРОСОВА,
 Ж. Н. АВЕГЯН, Э. К. АФРИКЯН

Установлено отсутствие отрицательного влияния лиофилизации на дифференциальные признаки и инсектицидную активность культур серотипа *causicus* после 6-летнего хранения. Оптимальной суспензионной средой является нормальная лошадиная сыворотка с 7,5% сахарозы.

Ключевые слова: лиофилизация, бактериальный препарат, консервация микробов.

Ллиофилизация широко используется для хранения культур микроорганизмов, а также для консервации различных биопрепаратов. Экспериментальные исследования многих авторов наглядно показывают преимущества этого способа сохранения микроорганизмов [4, 12, 13]. На возможность стабилизации основных свойств актиномицетов с помощью лиофилизации указывает Кузнецов [7].

Ряд авторов [1, 3, 5, 9] наблюдали отсутствие отрицательного влияния лиофилизации на жизнеспособность клеток и нормальную репродукцию споро- и токсинообразования у некоторых штаммов *Bac. thuringiensis*. В нашу задачу входило изучение влияния лиофилизации на сохранение основных таксономических признаков штаммов серотипа *causicus* и их вирулентность при использовании различных суспензионных сред.

Материал и методика. В работе испытывались производственные культуры *Bac. thuringiensis* var. *causicus*, применяемые для выработки препарата БИП (штаммы—ИНМИА 805, 811, 837), а также менее типичные штаммы того же серотипа—ИНМИА 924 и 950.

Ллиофильная сушка культур проводилась в камере ТГ-15 (ГДР) при следующем режиме: температура замораживания минус 40° в течение 18 ч, температура высушивания плюс 35—40°. Сублимация проводилась в течение 5 ч при вакууме 10⁻² мм ртутного столба.

Культуры бактерий выращивались на мясо-пептонном агаре (МПА) с добавлением 1% дрожжевого автолизата и после полного высыпания спор (обычно на 3—5 сут.), суспензировались в различных защитных средах, включающих сыворотки, углеводы и физиологический раствор в разных соотношениях. Состав использованных суспензионных сред представлен в табл. 1. Титр суспензий равнялся приблизительно 1 млрд. спор в 1 мл. Ампулы с лиофилизированным материалом хранились при комнатной температуре.

Как видно из представленных в таблице данных (табл. 1), в работе применялись по несколько культур одного штамма, которые содержались до этого в различных

Таблица 1

Суспензионные среды для лиофилизации и сроки хранения штаммов caucasicus

Суспензионные среды	№ № штаммов	Сроки хранения	Условное обозначение варианта
Молочная сыворотка	811	6 лет	811—1
Молочная сыворотка + 10% сахарозы	811	6 лет	811—2
Лошадиная сыворотка + 7,5% сахарозы	811	6 лет	811—3
Mist. desiccans	811	6 лет	811—4
Физиологический раствор	811	6 лет	811—5
Физиологический раствор + 10% глицерина	811	6 лет	811—6
Физиологический раствор + 7,5% сахарозы	811	6 мес.	811—7
Физиологический раствор + 7,5% сахарозы	805	6 мес.	805
Физиологический раствор + 7,5% сахарозы	837	6 мес.	837
Физиологический раствор + 7,5% сахарозы	924	3 мес.	924
Лошадиная сыворотка	950	3 мес.	950

Примечание: номера штаммов здесь и в последующих таблицах даны по коллекции Института микробиологии АН АрмССР.

условиях и отличались друг от друга интенсивностью образования энтомоцидных кристаллов. Эти опыты проводились с целью установления более достоверных результатов на фоне variability одного штамма.

Репродукция лиофилизированных бактерий проводилась внесением в ампулу стерильной водопроводной воды или физиологического раствора в количестве, равном первоначальному объему суспензии, и высевом ее на МПА с дрожжевым автолизатом в чашки Петри—для выяснения выживаемости культур после лиофилизации, и на косяки в пробирках—для изучения морфологических и физиолого-биохимических признаков штаммов. Использование растворов для регидратации среды, свободной от питательных веществ, но богатой хлоридами, ряд исследователей предлагает для снижения числа гибнущих при реактивации лиофилизированных микроорганизмов [2, 4, 14].

У лиофилизированных культур в разные сроки хранения нами изучались ключевые признаки методами, предложенными Де Баржак и Бонфуа [10, 11]. Проводилось изучение и других признаков по тестам, описанным в различных источниках, а также рекомендуемым подкомитетом бацилл Международного комитета по систематике бактерий. Подробные ссылки на использованные методики приведены в работе Надировой с соавторами [8].

Сохранение инсектицидных свойств культур определялось по интенсивности образования ромбовидных кристаллов и по гибели гусениц непарного шелкопряда. Гусеницы заражались путем скармливания корма, смоченного суспензией исследуемой культуры до и после лиофилизации ее в различных концентрациях (100, 10, 1%). Испытание проводилось на 15 гусеницах для каждой концентрации. Титр исходной суспензии, соответствующий 100%, составлял 4 млрд. спор/мл.

Результаты и обсуждение. Изучение штаммов серотипа caucasicus, содержащихся в течение продолжительного времени в лиофильно высушенном состоянии при комнатной температуре с использованием различных суспензионных сред, показало отсутствие каких-либо морфологических и культуральных отклонений по сравнению с теми же признаками у музейных штаммов.

Выживаемость испытанных штаммов, достигающая 80—90% непосредственно после лиофилизации, постепенно снижается и к 6 годам хранения доходит до 28—38% (табл. 2). Однако результаты исследований показывают сохранение штаммами высокой активности размножения и ферментативных свойств. В то же время необходимо отметить, что выявленные изменения в проценте выживаемости спор указывают на их биологическую неоднородность в одной и той же популяции. Этот факт имеет важное значение, включая производственное, и требует особого изучения.

Таблица 2

Выживаемость штаммов *causaticus* при длительном хранении
в лиофилизированном состоянии

№ штаммов	Суспензионные среды	Сроки хранения	Титр, спор млн на 1 мл	Выживаемость, % к исходному
811	Молочная сыворотка	6 лет	432	43,2
811	Молочная сыворотка+10% сахарозы	6 лет	350	38
811	Лошадиная сыворотка+7,5% сахарозы	6 лет	450	45
811	Mist. desiccans	6 лет	280	28
811	Физиологический раствор	6 лет	370	37
811	Физиологический раствор+10% глицерина	6 лет	380	38
811	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	560	56
805	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	456	45,6
837	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	560	56
924	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	3 мес.	760	76
950	Лошадиная сыворотка	3 мес.	680	68

Как показывают данные табл. 2, наилучшей из испытанных суспензионных сред следует считать лошадиную сыворотку с 7,5% сахарозы, обеспечивающую сравнительно высокий процент репродукции жизнеспособных клеток при длительном хранении лиофилизированных культур серотипа *causaticus*.

Важнейшим признаком токсичности энтомопатогенных бактерий является токсинообразующая способность (по образованию кристаллов) штаммов *Bac. thuringiensis*. Поэтому прежде всего была изучена стабильность этого признака при лиофилизации с использованием разных суспензионных сред в разные сроки хранения при комнатной температуре. Как видно из данных табл. 3, штамм 811 через 6 лет полностью сохранил способность к образованию спор и в значительной мере—токсинообразованию. Данные показывают, что оптимальной суспензионной средой является лошадиная сыворотка с 7,5% сахарозы, *Mist. desiccans* и физиологический раствор. Хотя последние и позволяют получить высокий процент токсинов, но кристаллы образуются в основном мелкие. Минимальный процент токсинообразования наблюдается при

Сохранение споро- и кристаллообразующей способности штаммов *caucasicus* после лиофилизации

№ штаммов	Суспензионные среды	Срок хранения	Репродукция токсинов, % к исходному
811	Молочная сыворотка	6 лет	40—50
811	Молочная сыворотка+10% сахарозы	6 лет	60—70
811	Лошадиная сыворотка+7,5% сахарозы	6 лет	70—80
811	Mist. desiccans	6 лет	90 (мелкие)
811	Физиологический раствор	6 лет	90
811	Физиологический раствор+10% глицерина	6 лет	60—70
811	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	80—90 (мелкие)
805	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	60—70
837	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	6 мес.	60—70
924	Физиологический раствор+7,5% сахарозы	3 мес.	60—70
950	Лошадиная сыворотка	3 мес.	единичные

лиофильном высушивании штамма на молочной сыворотке. Штамм 950, лиофилизированный на лошадиной сыворотке без добавления сахарозы, уже через 3 месяца хранения теряет свою токсинообразующую способность. Очевидно, для этого штамма необходимо продолжить поиски более пригодной суспензионной среды, либо изменить режим лиофилизации. Сравнительно высокий процент токсинов редуцируется при использовании в качестве суспензионной среды физиологического раствора с 7,5% сахарозы. Однако непродолжительное время хранения не позволяет сделать определенных выводов относительно этой защитной среды. Тем не менее надо подчеркнуть, что консервация испытанных штаммов методом лиофилизации в целом позволяет на достаточно высоком уровне сохранять кристаллообразующие свойства данного серотипа. Это особенно важно, если учесть, что при пересевах на обычные питательные среды культуры серотипа *caucasicus* довольно быстро снижают эти свойства, а образование мелких кристалловидных токсинов является характерной особенностью данной разновидности.

В табл. 4 сведены результаты изучения основных признаков штаммов серотипа *caucasicus*. Вне зависимости от суспензионной среды и от сроков хранения лиофильно высушенных культур большинство дифференциальных признаков проявило постоянство: как и до лиофилизации, изученные штаммы обладали протеолитической активностью, гидролизировали крахмал, давали положительную лецитино-вителлиновую реакцию (ЛВР), образовывали ацетилметилкарбинол (АМК) и (кроме штамма 950)—розовый пигмент, но не синтезировали уреазу и не продуцировали кислоту из сахарозы, маннозы и салицина. Исключение составила способность штаммов выделять кислоту при росте на целлобио-

Репродукция дифференциальных признаков у штаммов серотипа
caucasicus после лиофилизации

Штаммы, варианты	Признаки	АМК	ЛВР	Протеолит	Уреаза	Пигмент	Фермента- ция				
							сахарозы	маннозы	целлюбио- зы	салицила	эскулина
До лиофилизации											
805, 811, 837, 924		+	+	+	-	+	-	-	+	-	+++
950		+	+	+	-	-	-	-	+	-	+
После лиофилизации											
805, 837, 924, 811-1, 811-2, 811-3, 811-4, 811-6, 811-7		+	+	+	-	+	-	-	-	-	+++
811-5		+	+	+	-	+	-	-	-	-	+
950		+	+	+	-	-	-	-	-	-	+

зе. Это свойство все опытные штаммы после лиофилизации утратили. Что же касается стабильных признаков *Bac. thuringiensis*, представленных в табл. 5, все они репродуцировались без каких-либо отклонений от нормы.

Таблица 5

Репродукция стабильных признаков после лиофилизации штаммов
серотипа caucasicus

Штаммы, варианты	Признаки	Каталаза	Инвертаза	Редуктаза	Денитри- фикация	Пленка
До лиофилизации						
805, 811, 837, 924, 950		+	-	-	+	-
После лиофилизации						
805, 837, 924, 950, 811-1, 811-2, 811-3, 811-4, 811-5, 811-6, 811-7		+	-	-	+	-

Аналогичная картина наблюдается и при изучении других дополнительных признаков (табл. 6). Однако, как и при усвоении целлобиозы, отмечается потеря способности усвоения пропионата натрия, эту активность сохраняет штамм 811 при сушке на *Mist. desiccans* и физиологическом растворе с 7,5% сахарозы. Однако штаммы 837 и 924 при лиофилизации на физиологическом растворе с сахарозой теряют это свойство. Подобные различия в усвоении источников углерода сходны с изменениями, отмеченными Надировой и Земляковым [8] у бактерий, длительно сохраняемых под вазелиновым маслом.

Репродукция дополнительных признаков после лиофилизации
у штаммов серотипа caucasicus

Штаммы, варианты	Признаки											
	7% NaCl	pH 5,7	50°C	Цитрат Na	Пропионат Na	ДГА	Разложение казеина	Тирозиназа	Дезфен	ЛДК	ОДК	АДГ
До лиофилизации												
805, 811, 837, 924	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—
950	+	+	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—
После лиофилизации												
805, 811—4, 811—7	+	+	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—
837, 925, 950, 811—1, 811—2,	+	+	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—
811—3, 811—5, 811—6	+	+	—	+	—	+	+	—	—	—	—	—

Условные сокращения: ДГА—дигидроксиацетон; ЛДК—лизиндекарбоксилаза; ОДК—орнитиндекарбоксилаза; АДГ—аргининдигидролаза; дезфен—деаминаза фенилаланина.

В табл. 7 представлены данные о гибели непарного шелкопряда при скармливании им различных концентраций суспензии штамма 811 после лиофилизации. Отмечается лишь незначительное снижение энтомоцидной активности по сравнению с нелиофилизированным штаммом, что можно отнести за счет возможной вариабельности в условиях опыта.

Таблица 7
Стабильность энтомоцидного действия штамма caucasicus после лиофилизации
(средние трех повторностей)

Штаммы	Концентрация суспензий	Гибель гусениц, %		
		100	10	1
811 (до лиофилизации)		88,9	55	26
811—7 (после лиофилизации)		84,6	48,3	22

Результаты исследований позволяют заключить, что лиофильная сушка является надежным способом сохранения жизнеспособности и других важнейших признаков штаммов *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* в течение продолжительного времени. Этот метод можно рекомендовать и для консервации и хранения производственных культур бактерий этой разновидности в промышленной выработке инсектицидного препарата БИП.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 26.III 1978 г.

**ԼԻՓՖԻԼԻԶԱՅԻԱՅԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ BACILLUS
THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS
ԿՈՒԼՏՈՐԱՆԵՐԻ ԿԱՐԵՎՈՐ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՎՐԱ**

Ա. Ա. ԿԱԶԱՏՐՅԱՆ, Ռ. Հ. ԲՈԲԻԿՅԱՆ, Տ. Ա. ՄԱՐՏԻՐՈՍՈՎԱ,
Փ. Հ. ԱՎԵՏՅԱՆ, Է. Գ. ԱՖՐԻԿՅԱՆ

Վեց տարվա ուսումնասիրությունների արդյունքների հիման վրա հաստատված է, որ լիփֆիլիզացիան հանդիսանում է *Bacillus thuringiensis* var. *causicus* շտամների կենսունակության և բնորոշ հատկությունների պահպանման էֆեկտիվ եղանակ։ Որպես սուսպենզիոն միջավայր առավել արդյունավետ է ձիու շիճուկի օգտագործումը 7,5 % սախարոզի հետ։

**INFLUENCE OF LYOPHILIZATION ON IMPORTANT PROPERTIES
OF BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS STRAINS**

A. A. KHACHATURIAN, R. H. BOBIKIAN, T. A. MARTIROSOVA,
J. H. AVETIAN, E. G. AFRIKIAN

Data obtained for 6 years observations have shown that lyophilization of *Bac. thuringiensis* var. *causicus* strains is an efficient method for maintenance of the viability, characteristic features as well as the ability to produce entomocide crystals. The most efficient among media tested was horse serum with 7,5 per cent of sucrose.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
2. Бланков Б. И., Клебанов Д. Л. Применение лиофилизации в микробиологии. М., 1961.
3. Бобикян Р. А., Чил-Акопян Л. А., Чилингярян К. О., Киракосян И. А., Адимян А. Б., Исмаилова А. Ю., Африкян Э. К. Сб.: Вопросы микробиологии. Микробные метаболиты, вып. 5 (XV), 191, Ереван, 1972.
4. Данилова М. В., Надирова И. М., Кудрявцев В. И. Сб.: Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов, 119, 1967.
5. Исакова Н. П., Строева И. А. Тр. ВИЗР, 31, 371, 1968.
6. Крохина В. Н. Прикладная биохимия и микробиология, 10, 5, 753, 1974.
7. Кузнецов В. Д. Автореф. докт. дисс., М., 1975.
8. Надирова И. М., Земляков В. Л. Микробиология, 39, 6, 1106, 1970.
9. Троицкая Е. Н. Прикладная биохимия и микробиология, 15, 3, 402, 1979.
10. Barjac H. de, Bonnefol A. Entomophaga, 7, 5, 1962.
11. Barjac H. de, Bonnefol A. Entomophaga, 18, 1, 5, 1973.
12. Lapage S. P., Shelton J. E., Mitchell T. G., Mackenzie A. R. In: Methods in Microbiology, 3A, 135, Acad Press, London, 1970.
13. Lapage S. P. In: Proceedings of the first intersectional congress of IAMS. 5, Microbial products. Freezing and freeze-drying, Japan, 632, 1975.
14. Yamasato K., Okuno D. In: Proceedings of the first intersectional congress of IAMS, 5, Microbial products. Freezing and freeze-drying, 641, Japan, 1975.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ СЕРОТИПОВ BACILLUS THURINGIENSIS В АРМЕНИИ

К. О. ЧИЛДINGАРЯН

Изучалось распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре более 400 образцов насекомых—вредителей из разных районов Армении. Выделено и идентифицировано 100 штаммов указанного вида. Установлено, что в Армении чаще всего встречаются культуры серотипов 4,5 и 10 этого вида бактерий. Выявлены определенные ареалы распространения культур этих серотипов.

Ключевые слова: бактерии, экология.

Вопросы экологии культур разных серотипов *Bac. thuringiensis* являются основой направленных поисков новых перспективных штаммов для производства инсектицидных препаратов.

Исследованиями ряда авторов установлено, что существует приуроченность культур разных серотипов к различным географическим зонам [1, 2, 8—10, 12]. Так, в Сибири чаще выделяются культуры серотипов 4 и 5 [5], а на Кавказе—3,5 и 10 [1].

В настоящей работе сделана попытка охарактеризовать распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре различных видов насекомых из разных районов Армении.

Материал и методика. Объектами исследований служили насекомые, погибшие на разных стадиях развития (личинки, куколки, стадии имаго), собранные в различных районах Армении, где не применялись бактериальные инсектицидные препараты.

Всего было обследовано свыше 400 образцов 20-ти различных видов насекомых, причем впервые в Армении обследовались насекомые следующих видов: колорадский жук, слепни, луговой мотылек, различные виды блох и комаров. Микробиологический анализ проводился расевом суспензии образцов насекомых на поверхность мясо-пептонного агара (МПА) в чашках Петри. Рост бактерий учитывался на 2—3 сут инкубации при 30°. Помимо учета общего содержания бактерий и других групп микроорганизмов, проводился анализ качественного состава бактерий микрокопированием колоний. Культуры *Bac. thuringiensis* выделялись, подвергались очистке.

Каждая выделяемая культура очищалась повторными высевами пастеризованной суспензии на МПА или же пептонном агаре (ПА) с добавлением 1% дрожжевого автолизата.

Культуральные особенности бактерий описывались на средах МПА и ПА через 3—5 сут после посева по общепринятой схеме [6].

Морфология клеток в цикле развития культуры изучалась в живых препаратах в микроскопе МБИ-3 с фазовым контрастом. Определялись размеры клеток и спор. Для выявления параспоральных включений мазки окрашивались карболовым фуксин-ом Циля. Окрашиваемость изучалась по Граму в модификации Синева [7].

Образование ацетилметилкарбинила проверялось на среде Кларка, способность давать лецитино-вителлиновую реакцию и параллельно пигментообразование изучалось по Беттхеру [3]. Остальные физиолого-биохимические свойства определялись на средах и по методам, предложенным подкомитетом бацилл Международного комитета по систематике бактерий.

Серологическая дифференциация культур *Bac. thuringiensis* проводилась иммунными антисыворотками к жгутиковым антигенам по методу Де Баржак и Бонифуа [11].

Результаты и обсуждение. При выделении культур из всех обследованных образцов только в 12-ти не удалось обнаружить спорообразующих бактерий, и микрофлора этих насекомых была представлена грибами и культурами группы кишечной палочки. Из остальных образцов нами выделено около 350 штаммов спорообразующих бактерий, в том числе 100 штаммов интересующей нас группы энтомопатогенных культур *Bac. thuringiensis*.

В результате комплекса проведенных исследований все культуры отнесены к четырем группам: серотипы 4,5 и 10 и в одну группу из 30 штаммов, не серотипируемых ни одной из известных сывороток к 14 серотипам данного вида бактерий. Эти штаммы изучаются с целью описания их в качестве новых серотипов.

В табл. 1 представлено распространение культур *Bac. thuringiensis* в микрофлоре различных видов насекомых. Как видно из приведенных данных, чаще всего культуры этого вида выделялись из микро-

Таблица 1
Распространение культур *Bacillus thuringiensis* в микрофлоре насекомых

Насекомое	Количество образцов	Выделено культур	
		всего	<i>Bac. thuringiensis</i>
<i>Agrotis segetum</i> Schiff.	21	55	14
<i>Agrotis ypsilon</i> Rott.	4	24	6
<i>Barathra brassicae</i> L.	3	10	1
<i>Bombyx mori</i> L.	3	8	2
<i>Diprion pini</i> L.	3	1	1
<i>Hyponomeuta podellus</i> L.	2	3	3
<i>Hyponomeuta malinellus</i> Zell.	15	29	15
<i>Carpocapsa pomonella</i> L.	2	6	1
<i>Galleriae mellonella</i> L.	5	6	6
<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say.	10	12	8
<i>Tabanus spectabiles</i> L.	2	6	2
<i>Polychrosis batrana</i> Schiff.	4	6	4
<i>Ceratophyllus tesquorum</i> Wagn.	3	6	4
<i>Neonsylla setosa</i> Wagn.	1	1	1
<i>Aradus cinnamomeus</i>	10	22	20

флоры таких насекомых, как плодовая моль (*Hyponomeuta podellus* L.), яблонная (*Hyponomeuta malinellus* Zell.), большая восковая моль (*Galleriae mellonella* L.), тутовый шелкопряд (*Bombyx mori* L.), гроздевая листовертка (*Polychrosis batrana* Schiff.) и реже — из яблонной плодовой жоржки (*Carpocapsa pomonella* L.), кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L.), капустной (*Barathra brassicae* L.) и озимой совок

(*Agrotis segetum* Schiff). Особенно интересно отметить, что выделяют культуры *Bac. thuringiensis* из паразитированных гусениц и паразитов яблонной моли, а также из колорадского жука (*Leptodermella* L.).

В табл. 2—4 представлены данные по физиолого-биохимической характеристике выделенных культур. В табл. 2, 3 не включены такие признаки, как образование ацетил-метил-карбинола (АМК), лецитина-

Таблица 2

Характеристика физиолого-биохимических свойств культур серотипа *caucasicus*

Культуры бактерий (рабочие №№)	Образование кислоты из				Образование		Рост культуры	
	сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы	пигмента	дигидро-ксиацетона	при pH 5,7	в 7% NaCl
6	+	+	—	+	++	+	—	+
12—11	—	—	—	—	+	—	—	—
35, 38	—	+	—	—	+	+	+	+
39	—	+	—	—	+	—	+	+
41	—	—	—	—	+	—	+	+
43	+	—	—	—	+	—	+	+
45	—	+	—	—	++	—	+	—
49	—	—	—	—	++	—	+	—
50, 51, 59	—	—	—	—	+	+	+	—
55	+	+	—	—	+	+	+	—
58, 74	—	—	—	—	+	—	+	—
70	—	—	—	—	+	—	+	—
78	—	—	—	+	—	—	+	+

Примечание: здесь и в последующих таблицах знаком (+) отмечена положительная, (—)—отрицательная реакция.

Таблица 3

Характеристика физиолого-биохимических особенностей культур серотипа *galleriae*

Культуры бактерий (рабочие №№)	Образование кислоты из				Образование		Дезаминирование фенилаланина	Рост культур	
	сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы	уреазы	дигидро-ксиацетона		при pH 5,7	в 7% NaCl
30, 36	—	+	—	+	+	+	+	+	+
65	+	—	—	+	+	—	—	+	+
66	—	+	—	+	—	++	+	+	+
71, 72	—	+	—	+	—	—	—	+	+
73, 76	—	+	—	+	—	—	+	+	+
75	—	+	—	+	—	—	—	+	+
77	—	+	—	+	—	++	—	—	+
92	—	—	—	+	—	+	+	—	—
147	—	—	—	+	—	—	++	—	+
148	—	—	—	+	—	—	+	—	+
149	—	—	—	+	+	++	+	+	+
150	—	—	—	+	—	—	+	—	+
151	—	—	—	+	+	—	—	+	+
155, 157	+	—	—	+	—	++	—	—	+

Характеристика физиолого-биохимических свойств новых культур серотипа sotto-dendrolimus

Культуры бактерий (работы №№)	АМК	Образование кислоты из				Образование дигидроксоацетона	Денитрификация	Рост культуры	
		сахарозы	салицина	маннозы	целлобиозы			при pH 5,7	в 7% NaCl
1	—	—	—	—	+	—	+	+	—
2A	—	—	—	—	+	+	+	+	+
2B	+	—	—	—	+	—	+	—	+
1—3	+	+	—	—	—	—	—	+	+
K—1	+	+	—	—	—	+	—	+	+
2	—	+	—	—	—	+	—	+	+
62	+	+	—	—	+	+	—	+	+
9A	+	+	—	—	+	+	—	+	+

зы (ЛВР), гидролиз крахмала, протеолиз, сбраживание эскулина, денитрификация, так как эти свойства выявлены у всех обследованных культур, что соответствует ключу для дифференциации культур *Bac. thuringiensis*.

Особое внимание при дифференциации культур *Bac. thuringiensis* привлекает их способность образовывать кислоту при усвоении таких углеводов, как сахароза, салицин, манноза и целлобиоза. Как следует из таблиц, наиболее показательно усвоение таких сахаров, как манноза и целлобиоза.

При попытке проанализировать распространение культур *Bac. thuringiensis* в разных районах выяснилось, что наряду с районами, в которых микрофлора погибших насекомых представлена культурами серотипов 5 и 10, существуют также районы-«очаги» выделения культур отдельных серотипов. Так, например, из насекомых, собранных в Эчмиадзинском и Сисианском районах, выделялись культуры как 5-го, так и 10-го серотипа, с той лишь разницей, что в Эчмиадзинском районе чаще выделялись культуры серотипа 10, а в Сисианском—серотипа 5. Культуры только 5-го серотипа выделялись из микрофлоры насекомых Арташатского и Шамшадинского районов, серотипа 10—в Ноемберянском и Гугаркском районах, серотипа 4—в Горисском.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 23.X 1979 г.

ՀԱՅԱՍՏԱՆՈՒՄ BACILLUS THURINGIENSIS ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՍԵՐՈՏԻՊՆԵՐԻ ՏԱՐԱԾՈՒՄԸ

Կ. Հ. ՉԻԼԻՆԳՐՅԱՆ

Հայաստանի տարբեր շրջաններից հավաքած 400-ից ավելի վնասատու միջատների միկրոֆլորայում ուսումնասիրվել է *Bac. thuringiensis* տեսակի կուլտուրաների տարածումը:

Միկոսացվել և տեսակավորվել է նշված տեսակի 100 կուլտուրա: Հաստատվել է, որ Հայաստանում ամենահաճախ հանդիպում են վերոհիշյալ տեսակի 4, 5 և 10 սերոտիպերի կուլտուրաները:

DISTRIBUTION OF BACILLUS THURINGIENSIS SEROTYPES IN ARMENIA

K. H. CHILINHARIAN

Distribution of *Bacillus thuringiensis* cultures in more than 400 samples of pests from different regions of Armenia has been studied. 100 strains of this species has been isolated and identified. Representatives of serotypes 4,5 and 10 of *Bacillus thuringiensis* are mostly distributed in investigated insects.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение, Ереван, 1973.
2. Баранова В. П. Автореф. канд. дисс., Л., 1972.
3. Беттхер К. Микробиология, 30, 4, 1961.
4. Гафурова В. Л. Изв. АН Тадж. ССР, (отд. биол. наук), 4, 41, 105, 1970.
5. Гриценко И. Н., Соколова М. Я., Черепанова Н. Е., Юдина Е. В. В кн.: Генетика и селекция микроорганизмов, Новосибирск, 25, 106—109, 1975.
6. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований, М., 1978.
7. Лебедева М. Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии, М., 1950.
8. Ходырев В. П. Автореф. канд. дисс., Алма-Ата, 1975.
9. Akiba Y., Sekijima Y., Aizawa K., Fujiyoshi N. Japan J. Appl. Entomol. a. Zool. 21, 1, 41—46, 1977.
10. Burges H. D., Hurst J. A. J. Invertebr. Pathol., 32, 2, 131—139, 1977.
11. De Barjac H., Bonnefoi A. Entomophaga, 7, 1, 1962.
12. Sekijima Y., Akiba Y., Ono K., Aizawa K., Fudiyoshi N. Japan J. Appl. Entomol. a. Zool., 21, 1, 35—40, 1977.

СПЕКТР ЭНТОМОПАТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ БИП

В. А. ЧИЛИНГАРЯН, Ж. Х. ОРМАНЯН, Б. К. КАЗАРЯН

При изучении 29-ти видов насекомых—представителей отрядов Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, Orthoptera, Hymenoptera — восприимчивыми к БИП-805, БИП-811, БИП-837 оказались 18 видов чешуекрылых из семейства *Hyponomeutidae* Pieridae, Lasiocampidae, Pyralidae, Tortricidae, Plutellidae, Apatelidae, Notontidae.

Эффективность препаратов БИП равнозначна таковой других отечественных бактериальных препаратов—энтобактерина-3, дендробациллина—и зарубежных—турицида и биотрола.

Показаны условия эффективного применения препаратов БИП против различных вредоносных насекомых.

Ключевые слова: бактериальные препараты, чешуекрылые, микробиометод.

Энтомопатогенное действие культур спорообразующих бактерий и препаратов из них в Институте защиты растений МСХ АрмССР изучается с 1962 года. Исследования по отбору и изучению свойств бактерий за ряд лет дали возможность выявить наиболее вирулентные культуры энтомоцидных бактерий в отношении различных видов насекомых, идентифицированных как представители группы *Bac. thuringiensis*. Культуры бактерий-кристаллофоров новой разновидности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* послужили основой для получения новых бактериальных инсектицидных препаратов, названных БИП-805, БИП-811, БИП-837 [1, 2].

Материал и методика. Объектами наших исследований в основном были насекомые из отряда Lepidoptera, отчасти представители отрядов Coleoptera и Diptera. Вирулентность энтомоцидных препаратов устанавливалась путем скормливания им инфицированного корма. После питания насекомого зараженным кормом он заменялся свежим, без дополнительной обработки препаратами.

В работе испытывались препараты турицид и биотрол (США), энтобактерин-3 и дендробациллин производства Бердского хим. завода и БИП преимущественно Московского завода бакпрепаратов и Абовянского завода биохимических препаратов. В основном испытывались сухие отечественные препараты.

Испытания проводились на индивидуально содержащихся насекомых. Для каждого варианта количество подопытных гусениц младших (1—3) возрастов составляло 20, а старших (4—5)—10. Наблюдения за состоянием насекомых велись ежедневно в течение 10—20 дней.

Наряду с определением инсектицидной активности препаратов БИП, выявлялась также конечная эффективность их в естественных местообитаниях вредных видов насекомых. Испытания проводились методом закладки мелкоделяночных, крупноделяночных и производственных опытов. Полевые опыты по установлению эффективности препаратов в борьбе с комплексом листогрызущих вредителей капусты проводились

на посадках скороспелых, среднепоздних и позднеспелых сортов в колхозах сс. Мармашен и Муган Масисского района, Цахкашен Арташатского и Мегрут Гугаркского района. Размер опытных делянок в мелкоделяночных опытах составлял 25—50 м² общей площадью не менее 2 га, в крупноделяночных—от 100 до 200 м² общей площадью 5 га, в производственных—0,5—2 га общей площадью не менее 10 га. Повторность в мелкоделяночных и крупноделяночных опытах—трех- или четырехкратная. В условиях производственных опытов ограничивались двухкратной повторностью, испытания проводились не менее чем в 3—4-х местах.

Обработка капусты препаратами проводилась в период активного питания комплекса листогрызущих вредителей *Plutella maculipennis* Gurt., *Pieris brassicae* L., *P. gaeae* L., ранцевым аппаратом «СПР» из расчета 600—900 л/га рабочей жидкости, тракторным опрыскивателем марки «ОВТ-1»—600—800 л/га, при норме расхода препарата 3—4,5 кг/га.

Учеты по определению эффективности препаратов проводились через 2—5 и 12 дней после обработок.

Техническая эффективность препаратов определялась по снижению численности гусениц в сравнении с контролем [6].

Испытания препаратов в плодовом саду против листогрызущих вредителей *Hyponomeuta malinellus* Zell., *H. podellus* L. проводились в мелкоделяночных, широких полевых и производственных опытах в Эчмиадзинском районе.

В полевых опытах, проведенных в плодовом саду, применялись ранцевые опрыскиватели марок «ОПР», «ОПР-1» и тракторный опрыскиватель марки «ОВТ-1». Расход рабочей жидкости для инфицирования отдельных деревьев плодовых культур в лабораторно-полевых и мелкоделяночных опытах составлял 5 л на одно дерево. В широких полевых и производственных опытах норма расхода препаратов против яблонной и плодовой молей составляла 3,5—4,5 кг/га (700—900 л/га).

В условиях мелкоделяночных опытов обрабатывались зараженные вредителем отдельные деревья в количестве 10—15, в широких полевых и производственных опытах 15—20 деревьев с одного га, расположенных по диагонали участка.

Для широких полевых и производственных опытов были отведены сады, каждый площадью 5—20 га. Обработка препаратами проводилась после перехода гусениц к открытому питанию, т. е. в период III возраста, и не ранее чем на 10—15-й день после выхода гусениц из щитков и мнн.

В опытах по выяснению возможности совместного применения новых бактериальных препаратов с химическими на капусте и в плодовом саду были использованы: из афидидов—70%-ный смачивающийся порошок сайфоса, акарицидов—20%-ный концентрат эмульсии кельтана и из фунгицидов—бордоская жидкость.

При определении действия новых бактериальных препаратов на *Ageniaspis fuscicollis* Dalm. гусеницы яблонной моли, паразитизированные им, помещались в широкие стеклянные сосуды, закрытые плотной картонной крышкой, и через пробуранные отверстия крышки в банку опускалась пробирка с суспензией препаратов (0,5—1,0%) и раствором сахарозы (5,0%), служащими кормом для вылетевших взрослых особей паразита. Количество вылетевших взрослых особей в каждом варианте опыта составляло 172—240. Повторность опыта четырехкратная. При ежедневном учете определялся процент гибели подопытных особей. Испытания осуществлялись методом закладки мелкоделяночных, крупноделяночных и производственных опытов, общая площадь под мелкоделяночные опыты составляла 0,4—0,6, крупноделяночные—2,8—10, производственные 20—303,1 га. Расход рабочей жидкости в мелкоделяночных опытах при использовании ранцевых аппаратов составлял 1500—1600 л/га, тракторных опрыскивателей—1200—1500 л/га, при норме расхода препарата 12—16 кг/га.

В борьбе против гроздовой листовертки винограда применялись следующие системы обработок: три обработки, по одной против каждого поколения; шесть обработок, по две против каждого поколения.

Эффективность препаратов определялась по снижению численности вредителя и по степени поврежденности гроздей винограда. При учетах тщательному осмотру под-

вергались кусты винограда по 10—40 в каждом варианте и расположенных в отрезках по диагонали

Длительность сохранности препаратов на капусте, яблоне и винограде выяснялась путем биологического контроля их токсичности. Пробные листья с обработанных растений капусты, яблони и кустов винограда брались через 5—10 и 20 дней после опрыскивания. Учет гибели гусениц проводился в условиях лаборатории, после посадки их на корм, инфицированный в полевых условиях.

Статистическая обработка экспериментальных данных проведена по Бирюковой [3] и Каминскому [4].

Результаты и обсуждение. По энтомопатогенному действию инсектициды из *Bac. thuringiensis* относятся к кишечным ядам и излагаемый нами материал о спектре энтомоцидной активности характеризует их при пероральном применении.

Первичная оценка биологической активности БИП-805, БИП-811, БИП-837, изготовленных на основе культур нового серотипа *caucasicus*, а также эталонных препаратов серотипов *galleriae*, *dendrolimus*, *thuringiensis*, показала, что основная масса испытанных видов насекомых вскоре прекращала питаться зараженным кормом [1, 5, 8, 14]. Личиночные фазы большинства восприимчивых насекомых погибли в течение 3—4 суток. При этом смертность их в основном по отдельным видам насекомых варьировала в пределах 70—100,0%, при естественной смертности в пределах 0—20%.

Результаты лабораторных опытов по выкормке зараженным кормом гусениц младших и старших возрастов позволяют заключить, что гусеницы этих возрастов погибают почти в равной мере.

В процессе испытания было выявлено, что летальное действие БИП-805, БИП-811, БИП-837, а также эталонных препаратов на гусениц ивовой волнянки, златогузки и непарного шелкопряда проявляется значительно медленнее, период их гибели растянут, полная гибель наступает не ранее чем через 12—15 дней после заражения.

Испытания препаратов БИП на гусеницах яблонной плодовой гусеницы методом скормливания им обработанных яблок показали, что в лабораторных опытах яблоки, инфицированные препаратами, по результатам учета, через 30 дней оказались здоровыми, контрольные необработанные оказались целиком поврежденными и загнившими. Средний показатель поврежденности их в опытных вариантах не превышал 0,1, в контрольном варианте он составил 1,6. При вгрызании гусеница выедает ход к семенной камере плода. Зараженная кожица яблок поедается гусеницами и они гибнут.

Таким образом, результатами лабораторных опытов установлено, что гусеницы яблонной плодовой гусеницы первого и старших возрастов являются восприимчивыми к бактериальной инфекции, и в этом отношении препараты БИП по своим энтомоцидным свойствам сходны с эталонными препаратами энтобактерином и дендробациллином.

Противоречивость данных, имеющихся в литературе, в отношении эффективности бактериальных препаратов на основе *Bac. thuringiensis* против яблонной плодовой гусеницы, вероятно, нужно отнести к недоста-

точной изученности сроков их применения. Восприимчивость гусениц яблонной плодовой гусеницы к бактериальным препаратам приводит нас к заключению, что применение этих препаратов в период массового появления и внедрения в плоды гусениц первых возрастов каждого поколения окажется эффективным мероприятием в борьбе против этого вредителя.

Изучение спектра энтомопатогенного действия показало, что из 29-ти испытанных видов насекомых различных систематических групп 18 видов из отряда чешуекрылых проявили восприимчивость к препаратам из культур новой разновидности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Наиболее восприимчивыми оказались чешуекрылые из семейств *Hyponomeutidae*, *Tortricidae*, *Pyralidae*, *Pieridae* (табл. 1).

Гусеницы ивовой волнянки (*Leucoma salicis* L.) златогрузки (*Euproctis chrysorrhoea* L.), непарного шелкопряда (*Porthetria dispar* L.) карадрины (*Laphygma exigua* Hb.) чувствительны к препаратам БИП, однако период их гибели растянут и они погибают в течение 12—15 дней от септицемии.

Восприимчивыми к препаратам БИП были гусеницы мальевой моли *Pectinophora malvella* Hb., яблонной плодовой гусеницы *Carpocapsa pomonella* L., однако ввиду скрытого образа жизни этих насекомых эффективность препаратов низкая.

Устойчивыми к действию изучаемых бактериальных препаратов оказались некоторые представители *Diptera*, *Coleoptera*, *Orthoptera*, *Hymenoptera*. Спектр энтомопатогенного действия препаратов БИП оказался сходным со спектром эталонных препаратов—энтобактерина, дендробациллина, турицида и биотрола.

По данным наших работ, препараты БИП оказались высокоэффективными в отношении гусениц капустной моли и репной белянки [7, 8, 10, 13].

Несмотря на высокую техническую эффективность (табл. 2) в первые дни каждой обработки, а в последующем—на 12-й день, эффективность препаратов понижается. Это подтверждает результаты наших ранее проведенных исследований по остаточному действию новых бактериальных препаратов на листьях капусты в фазу листового мутовки при наличии сильного воскового налета (10—12 дней). Опрыскивание против листогрызущих вредителей капусты необходимо начинать с момента массового появления гусениц первых возрастов и повторять по мере надобности через 10—12 дней.

Испытание новых бактериальных препаратов в борьбе против репной белянки проводилось также в фазу рыхлого кочана, когда основная масса гусениц старших возрастов этого вредителя находилась на листовых розетках кочана, в результате повсеместно отмечалось резкое снижение качества товарной продукции вновь образованных кочанов. По полученным данным (табл. 3), все новые препараты при однократном их применении по эффективности равны энтобактерину-3. В этих опытах также были использованы 0,5%-ные растворы препаратов.

**Сравнительная характеристика спектра энтомопатогенного действия
бактериальных инсектицидных препаратов**

Отряд, вид насекомого	БИП-805, 811, 837	Энтобакте- рии, деахро- бациллин, ту-инцид, биоотрол
Lepidoptera		
Яблонная моль (<i>Hyponomeuta malinellus</i> Zell.), плодовая моль (<i>Hyponomeuta padellus</i> L.), капустная моль (<i>Plutella maculipennis</i> Curt.), капустная белянка (<i>Pieris brassicae</i> L.), репная белянка (<i>Pieris rapae</i> L.), большая гарпия (<i>Dicranura vinula</i> L.), кленовая стрельчатка (<i>Apatete aceris</i> L.), кольчатый шелкопряд (<i>Malacosoma neustria</i> L.), гроздевая листовертка (<i>Polychrosis batrana</i> Schiff.), кукурузная огневка (<i>Ostrinia nubilalis</i> Hb.), тополевая листовертка (<i>Gypsonoma minutana</i> Hb.), южная амбарная огневка (<i>Plodia interpunctella</i> Hb.).	+++	+++
Ивовая волянка (<i>Leucoma salicis</i> L.), непарный шелкопряд (<i>Lymantria dispar</i> L.), златогузка (<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L.), карадина (<i>Lamhygma exigua</i> Hb.).	++	++
Мальвовая моль (<i>Pectinophora malvella</i> Hb.), яблонная пло- дожорка (<i>Carpocapsa pomonella</i> Hb.).	+	+
Тополевая огневка (<i>Nephopteryx rhenele</i> Zck.), капустная совка (<i>Barathra brassicae</i> L.), озимая совка (<i>Agrotis segetum</i> Schiff.), совка ипсилон (<i>Agrotis ypsilon</i> Rott.), совка гамма (<i>Autograph gamma</i> L.), плавучая кобылка (<i>Typrrocemis plorans</i> Ch.).	—	—
Coleoptera		
Люцерновый листовой долгоносик (<i>Phytonomus variabilis</i> Hrbst.).		
Hymenoptera		
Розанный пилильщик (<i>Cladius pectinicornis</i> C.).	—	—
Diptera		
Дынная муха (<i>Mycopardalis pardalina</i> Big.).		

Условные обозначения:

- (—)—насекомые, устойчивые к действию препаратов,
 (++)—восприимчивые к препаратам личиночные стадии, период действия длительный,
 (+++)—восприимчивые к препаратам личиночные стадии, период действия короткий,
 (+)—восприимчивые личиночные стадии, но применение препаратов затруднено из-за скрытого образа жизни вредителей.

Высокая техническая эффективность изучаемых препаратов в данную фазу вегетации капусты обусловлена продолжительным периодом их остаточного действия на вновь образовавшихся кочанах.

Таблица 2

Техническая эффективность препаратов БИП против вредителей среднепозднего сорта капусты в крупноделяночном опыте

Препарат	Снижение численности гусениц, % к контролю			
	I обработка		II обработка	
	3-й день	12-й день	3-й день	12-й день
Капустная моль				
БИП—805	85,7	18,7	83,8	64,7
БИП—811	78,5	46,3	85,3	67,6
БИП—837	78,5	45,1	88,2	67,6
Энтобактерин—3	82,1	45,1	86,7	67,6
Репная белянка				
БИП—805	78,1	47,5	88,0	62,3
БИП—811	78,2	21,8	82,0	74,0
БИП—837	71,8	32,0	85,6	79,7
Энтобактерин—3	75,6	32,0	86,8	78,3

Таблица 3

Техническая эффективность препаратов БИП против репной белянки среднепозднего сорта капусты в крупноделяночном опыте

Препарат	Снижение численности гусениц (% к контролю) на		
	2-й день	5-й день	10-й день
БИП—805	91,7	94,0	97,1
БИП—811	88,8	99,0	92,2
БИП—837	94,2	96,0	92,2
Энтобактерин—3	82,9	96,0	94,2

Применение в 1966 г. препаратов БИП в концентрации 0,5% на посадках скороспелого сорта капусты снизило численность гусениц на 3-й день после обработки соответственно на 78,5, 75,3, 73,1. а энтобактерина—на 81,6% (табл. 4).

Таблица 4

Техническая эффективность препаратов БИП против капустной моли скороспелого сорта капусты

Препарат	Снижение численности гусениц (% к контролю) на		
	3-й день	5-й день	10-й день
БИП—805	78,5	67,7	66,6
БИП—811	75,3	73,5	70,8
БИП—837	73,1	70,6	73,8
Энтобактерин—3	81,6	75,7	68,6

По результатам конечного учета, показатели среднего урожая позднеспелого сорта капусты на обработанных бактериальными препаратами в концентрации 0,5% участках значительно превышают таковой контрольных участков.

Производственное испытание препаратов БИП и энтобактерина против комплекса листогрызущих вредителей капусты (капустная моль, капустная и репная белянки) также показало их высокую техническую эффективность. На посадках среднеспелых и позднеспелых сортов капусты, при исключении химических обработок, новые препараты снизили численность гусениц всех изучаемых видов, по сравнению с контролем, на 70,2—100,0%, энтобактерин—на 84,2—100,0%, (табл. 5).

Т а б л и ц а 5

Техническая эффективность новых бактериальных инсектицидов против комплекса листогрызущих вредителей капусты в производственных опытах (концентрация препаратов 0,5%)

Пункты применения	Насекомые	Препарат	Снижение численности гусениц (% к контролю), после обработки на 10-й день
Цахкашен	репная белянка	БИП—805	84,9
		БИП—811	70,2
		БИП—837	73,9
		энтобактерин—3	86,0
Муган	репная белянка	БИП—805	88,0
		БИП—811	87,5
		БИП—837	81,4
		энтобактерин—3	84,2
Абовянский совхоз	капустная моль	БИП—805	85,2
		БИП—811	90,7
		БИП—837	90,3
		энтобактерин—3	88,0
Меирит	капустная белянка	БИП—805	100,0
		БИП—811	100,0
		БИП—837	100,0
		энтобактерин—3	100,0
Совхоз Арзани	капустная моль	БИП—837	72,9

Проверка патогенности храненных в течение полутора лет препаратов БИП против капустной моли, при применении с сайфосом (отлей) показала, что инсектицидное действие изучаемых препаратов не снижается при условии применения их в комбинации с сайфосом. Так, показатели снижения численности гусениц капустной моли по сравнению с контролем в результате применения БИП-805, БИП-811, БИП-837 с сайфосом на 3-й день составили соответственно 86,4, 82,5, 82,5%.

Эффективность применения препаратов БИП против яблонной и плодовой молей в мелкоделяночных опытах оказалась высокой: 91,8—98,7% гусениц яблонной моли при обработке этими препаратами на 10-й день погибли, 100,0%—при энтобактерине, 85,2%—дендробациллине, при 3,3% в контроле. БИП-805 и энтобактерин-3 вызвали полную гибель плодовой моли, в контроле же она составила 5,6% (табл. 6).

Таблица 6

Техническая эффективность новых бактериальных препаратов против молей на яблоне и абрикосах в мелкоделяночном опыте (концентрация раствора препарата 0,5%)

Препарат	Яблонная моль		Плодовая моль	
	гибель гусениц по дням учета на:			
	5-й	10-й	5-й	10-й
БИП—805	76,9	98,7	66,7	100,0
БИП—811	100,0	91,8	—	—
БИП—837	95,0	98,0	—	—
Энтобактерин—3	69,0	100,0	88,9	100,0
Дендробациллин	50,0	85,2	—	—
Контроль	0,0	3,3	0,0	5,6

В широких производственных опытах из новых препаратов был использован БИП-811, а эталоном служил энтобактерин-3. Результаты производственных опытов по испытанию БИП-811 в борьбе против яблонной и плодовой молей подтвердили результаты, полученные в мелкоделяночных и крупноделяночных опытах. Так, на 10-й день после обработки техническая эффективность БИП-811 при применении против яблонной моли по отдельным хозяйствам составила $95,8 \pm 0,3$ и $85,9 \pm 0,2$, плодовой моли— $85,3 \pm 0,4$, $96,1 \pm 0,3$ (табл. 7). Техническая эффективность нового препарата как по отношению к яблонной, так и к плодовой молям оказалась почти равной таковой энтобактерина-3.

Таблица 7

Техническая эффективность бактериальных препаратов против яблонной и плодовой молей в производственных опытах (0,5%-ная суспензия препарата)

Район, хозяйство	Насекомое	Препараты	Гибель гусениц по дням учета, % на		% технической эффективности на 10-й день после обработки	
			5-й	10-й	М	±
Эчмиадинский район, Гос. питомник	яблонная моль	БИП—811	87,0	85,6	95,8	0,3
		энтобактерин	88,8	87,9	85,0	0,3
		контроль	0,0	0,0	—	—
	плодовая моль	БИП—811	92,2	93,4	85,3	0,4
		энтобактерин	100,0	101,0	100,0	—
		контроль	0,0	0,0	—	—
Эчмиадинский район, колхоз В. Хатунарх	яблонная моль	БИП—811	88,3	86,6	85,7	0,2
		энтобактерин	72,6	95,0	93,0	0,2
		контроль	0,0	0,0	—	—
	плодовая моль	БИП—811	89,5	97,4	96,1	0,3
		энтобактерин	97,9	99,2	94,3	0,3
		контроль	0,0	0,0	—	—

В опытах по борьбе с яблонной молью препараты БИП и энтобактерин комбинировались с сайфосом, кельтаном, бордоской жидкостью. Эти препараты добавляли в рабочую суспензию бактериальных препаратов (0,5%-ной концентрации) перед опрыскиванием в принятых концентрациях (сайфос 0,1, кельтан—0,3, бордоская жидкость—1,0%).

БИП-811, энтобактерин жидкий, БИП (взамен энтобактерина-3) в чистом виде против гусениц яблонной моли проявили высокую вирулентность (табл. 8). На 10-й день после обработки гибель гусениц в ла-

Таблица 8

Эффективность совместного применения бактериальных препаратов с пестицидами

Препарат	Концентрация суспензии %	Гибель гусениц яблонной моли в течение 10 дней, %		Техническая эффективность, %	
		в лабораторных условиях	в полевых условиях	М	±
БИП-811	0,5	73,3	—	—	—
То же + сайфос	0,5+0,1	86,7	—	—	—
То же + кельтан	0,5+0,3	69,0	—	—	—
То же + бордоская жидкость	0,5+1,0	10,0	—	—	—
Энтобактерин жидкий	0,5	96,7	95,1	94,1	0,3
То же + сайфос	0,5+0,1	96,7	92,0	90,9	0,5
То же + кельтан	0,5+0,3	70,0	97,4	98,3	0,4
То же + бордоская жидкость	0,5+1,0	13,4	12,8	22,2	0,4
БИП (взамен энтобактерина-3)	0,5	80,0	73,4	75,4	0,4
То же + сайфос	0,5+0,1	70,0	72,0	82,6	0,4
То же + кельтан	0,5+0,3	60,0	94,0	97,4	0,3
То же + бордоская жидкость	0,5+1,0	17,2	8,8	33,6	0,2
Сайфос	0,1	3,3	0,0	0,0	—
Кельтан	0,3	0,0	0,0	0,0	—
Бордоская жидкость	1,0	6,7	0,0	0,0	—
Контроль	—	3,3	0,0	—	—

бораторном опыте составила соответственно 73,3, 96,7 и 80% при 3,3 в контроле, а в полевом опыте—95,1 и 73,4% при нулевом результате в контроле. При совместном применении энтобактерина жидкого и сухого с сайфосом техническая эффективность на 10-й день после обработки составила соответственно $90,0 \pm 0,5\%$ и $82,6 \pm 0,4\%$, с кельтаном— $98,3 \pm 0,4\%$ и $97,4 \pm 0,3\%$. Гибель гусениц яблонной моли в лабораторном опыте от препарата БИП-811 в комбинации с сайфосом и кельтаном составила соответственно 86,7 и 69,0%. Ослабление действия бактериальных препаратов наблюдалось при комбинировании их с бордоской жидкостью. При этом техническая эффективность на 10-й день после обработки в смеси с БИП-811, жидким энтобактерином, БИП (взамен энтобактерина-3) в лабораторном опыте составила соответственно 10,0, 13,4, 17,2%. В полевом опыте в варианте с энтобактерином жидким, БИП (взамен энтобактерина-3) в смеси с бордоской жидкостью составила соответственно $22,2 \pm 0,4$, $33,6 \pm 0,2\%$.

Снижение эффективности комбинированного применения бактериальных препаратов, изготовленных на основе *Bac. thuringiensis*, с фунгицидом, очевидно, должно быть результатом бактерицидных свойств медного купороса, являющегося основным ингредиентом бордоской жидкости.

При сопоставлении результатов комбинированного применения в плодовом саду бактериальных препаратов с сайфосом и кельтаном и каждого компонента в отдельности приходим к выводу, что в борьбе с яблонной молью и сосущими вредителями (тли, клещики) афицид-сайфос и акарицид-кельтан совместимы с БИП и энтобактерином. В борьбе с яблонной молью совместное применение энтобактерина и БИП с бордоской жидкостью на яблоне считаем неприемлемым.

В борьбе с вредными насекомыми особо важная роль отводится сохранению полезных энтомофагов. В условиях Армении самым распространенным паразитом яблонной моли является *Agoniaspis fuscicollis* Dalm., встречающийся во всех районах республики. Влияние препаратов БИП на имаго этого паразита определялось в лабораторных условиях. Заражение производилось скормливанием смеси суспензии бактериальных препаратов (0,5 и 1,0%) с сахарозой (5,0%).

Данными ежедневного учета установлено, что показатели гибели инфицированных паразитов не отличались от контроля (табл. 9).

Таблица 9

Инсектицидное действие бактериальных препаратов на имаго агониспиды

Сахароза 5,0% + препарат в кон- центрации, %	Количество подопыт- ных парази- тов	% гибели по дням учета					
		13-й	15-й	16-й	18-й	19-й	20-й
БИП—811, 05	203	0,0	42,8	71,4	95,6	100,0	—
БИП—811, 1,0	226	0,0	17,7	41,1	95,1	98,7	100
Контроль	234	0,0	25,8	61,1	85,4	99,5	100
БИП, 0,5	240	11,7	87,1	88,0	91,7	97,9	100
БИП, 1,0	172	0,6	91,8	94,8	100,0	—	—
Контроль - сахара- за (5,0%)	189	15,9	91,5	95,7	100,0	—	—

Продолжительность жизни паразитов как в инфицированных вариантах, так и в контроле составила 8—10 дней, что указывает на устойчивость имагинальной фазы паразита к указанным бактериальным препаратам.

В наших исследованиях бактериальные препараты как возможные заменители ядохимикатов применялись также в борьбе с гроздовой листоверткой винограда. Испытания проводились в очагах массовой вредности гроздовой листовертки на виноградниках шпалерной системы. Исходя из фенологии гроздовой листовертки обработки проводились в начале отрождения гусениц первого, второго и третьего поколений.

В мелкоделяничном опыте, при обильном смачивании всех соцветий на учетных кустах винограда, эффективность БИП-811, энтобактерина-3 и дендробациллина в борьбе против гусениц первого поколения оказалась высокой. На 5-й день после опрыскивания снижение численности живых гусениц по сравнению с контролем от 1%-ной суспензии БИП-811, энтобактерина, дендробациллина составила соответственно 95,9, 100,0%, а от 0,5%-ной суспензии БИП-811, энтобактерина, дендробациллина—соответственно 77,5, 91,7%. Лабораторными опытами также установлено, что наибольшая токсичность отмечается при использовании 1%-ной суспензии препаратов.

Опыты по установлению эффективности различных систем обработки бактериальными препаратами показали, что обработки, проведенные по одной против первого, второго, третьего поколений гроздовой листовёртки, значительно снизили повреждаемость ягод винограда. Число поврежденных ягод в одной грозди в вариантах, обработанных бактериальными препаратами, не превышало 1,3, а в контроле составило 5. Эффективность применения БИП-811 против гусениц гроздовой листовёртки оказалась аналогичной эффективности энтобактерина. Двукратная обработка против каждого поколения, проведенная с интервалом 10 дней после начала отрождения гусениц, не повысила эффективности мероприятия. По-видимому, это объясняется тем, что в этот период гусеницы уже проникают в ягоды.

Положительные результаты исследований в течение 1967-73 гг. дали возможность приступить к производственной проверке БИП-837 промышленного выпуска как возможного заменителя ядохимикатов. Испытания были проведены в очагах массовой вредоносности гроздовой листовёртки на виноградниках Араратской равнины общей площадью 303 гектара.

Анализ результатов производственных опытов показал, что техническая эффективность БИП-837 после трехкратной обработки, по данным Эчмиадзинского и Араратского районов, составила 53,1 и 83,6%, хлорофоса—57,2 и 72,8% (табл. 10).

Таблица 10

Техническая эффективность БИП-837 в борьбе против гусениц гроздовой листовёртки в производственных опытах (число учетных кустов— по 10 в каждом варианте)

Район и пункты применения	Препарат, концентрация, %	Число учетных гроздей	% поврежденных ягод	Число живых гусениц	Среднее число живых гусениц в одной грозди	Техническая эффективность к контролю
Эчмиадзинский, совхоз 3	БИП—837, 1	235	20,4	54	0,23	53,1
	хлорофос, 0,2	232	23,7	49	0,23	57,2
	контроль	247	47,1	122	0,49	—
Араратский, совхоз Арман	БИП—837, 1	241	14,9	24	0,09	83,6
	хлорофос, 0,2	217	15,2	42	0,15	72,8
	контроль	230	37,9	126	0,55	—

Итоговый учет степени поврежденности гроздей в период съема урожая винограда показал, что процент гроздей, не имевших товарной ценности, на обработанных БИП-837 участках по районам составит 0,4—2,5, при обработке хлорофосом—1,7—1,8, а в контроле 3,9—9,7, (табл. 11).

Таблица 11

Влияние БИП-837 на степень поврежденности гроздей листоверткой
(число учетных кустов—по 10 в варианте)

Район и пункт применения	Препарат, концентрация, %	Число учетных гроздей	% поврежденных гроздей по степеням				Техническая эффективность к контролю
			0	I	II	III	
Эчмиадзинский, совхоз 3	БИП—837, 1	235	79,6	11,1	6,8	2,5	0,32
	хлорофос, 0,2	232	76,3	14,7	7,3	1,7	0,35
	контроль	247	51,7	18,6	17,0	9,7	0,82
Арагатский, совхоз Армаш	БИП—837, 1	241	85,1	13,3	1,2	0,4	0,17
	хлорофос, 0,2	217	81,1	13,4	3,7	1,8	0,26
	контроль	230	62,6	23,0	10,4	3,9	0,56

0—грозди не повреждены гусеницами; I—следы повреждений—грозди объедены на 5—25%; II—слабое повреждение—грозди объедены на 25—50%; III—сильное повреждение—грозди объедены на 50—100%.

Таким образом, во всех полевых опытах отмечается высокая техническая эффективность БИП-805, БИП-811, БИП-837 на основе разновидности *saucasicus* в борьбе против изучаемых вредителей. В некоторых случаях они давали равнозначный с энтобактерином эффект, в большинстве случаев эффективность всех трех новых препаратов приближалась к таковой энтобактерина. Следует отметить также, что если в течение первых суток эффективность энтобактерина была выше, то при дальнейших учетах эта разница становилась менее заметной.

Институт защиты растений МСХ АрмССР

Поступило 19.VI 1979 г.

ԲԻՊ ՊԻԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ԷՆՏՈՄՈՊԱԹՈԳԵՆ ԱԶԴԵՅՈՒԹՅԱՆ ՍՊԵԿՏՐԸ ԵՎ ԱՐԴՅՈՒՆԱՎԵՏՈՒԹՅՈՒՆԸ

Վ. Հ. ՉԻԼԻՔԱՐՅԱՆ, Ժ. Խ. ՕՐԾԱՆՅԱՆ, Բ. Կ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ

Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել ԲԻՊ պրեպարատի արդյունավետ ազդեցությունը թեփուկաթևավորների *Hyponomeutidae*, *Pieridae*, *Lastocampidae*, *Pyrallidae*, *Tortricidae*, *Plutellidae*, *Apatelidae*, *Notodontidae* ընտանիքների 18 տեսակների նկատմամբ:

Այս պրեպարատների էֆեկտիվությունը համարժեք է գոյություն ունեցող հայրենական և արտասահմանյան էնտոմոպաթոգեն պրեպարատներին (էնտոբակտերին, ղենդրոբացիլին, սուրիցիդ, բիոտորոլ):

SPECTRUM OF ENTOMOPATHOGENOUS ACTION AND EFFICIENCY OF APPLICATION OF BIP PREPARATION

V. H. CHILINGARIAN, J. K. ORMANIAN, B. K. KAZARIAN

Insecticide action of BIP preparation against 18 species of Lepidoptera (from Hyponomeutidae, Pieridae, Lasiocampidae, Pyralides, Tortricidae, Plutellidae, Apatelidae, Notodontidae families) has been revealed. Efficiency of these preparation is equal to that of other soviet and foreign bacterial insecticide preparations (entobacterin, dendrobacillin, biotrol, thuricide).

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К., Чилингарян В. А., Чил-Акопян Л. А., Туманян В. Г., Бобикян Р. А., Геворкян С. Г. Биол. ж. Армении, 22, 6, 1969.
2. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
3. Бирюкова Р. И. Статистика в клинических исследованиях. М., 1964.
4. Каминский Л. С. Обработка клинических и лабораторных данных, М., 1959.
5. Орманиян Ж. Х. Автореф. канд. дисс., Ереван, 1972.
6. Соболев А. С. Практикум по сельскохозяйственной энтомологии. М., 1961.
7. Чилингарян В. А. Изв. с/х наук МСХ АрмССР, 6, 1963.
8. Чилингарян В. А. Сб. Исследования по биологическому методу борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства. Новосибирск, 1965.
9. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Мат-лы юбилейной сессии по фауне Армянской ССР. Ереван, 1969.
10. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Тр. Ин-та защиты растений МСХ АрмССР, 1, Ереван, 1970.
11. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Сб. Биологические методы защиты плодовых и овощных культур от вредителей, болезней и сорняков как основы интегрированных систем. Кишинев, 1971а.
12. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Мат-лы сессии Закавказского совета по координации н.-и работ по защите растений. Ереван, 1971б.
13. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Сб. Современное состояние биологических методов борьбы с вредителями и болезнями сельскохозяйственных культур и разработке режимов безвредного применения пестицидов. Баку, 1973.
14. Чилингарян В. А., Орманиян Ж. Х., Казарян Б. К. Тр. Ин-та защиты растений МСХ АрмССР, 2, Ереван, 1976.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА БИП В БОРЬБЕ С ЛИСТОГРЫЗУЩИМИ ЧЕШУЕКРЫЛЫМИ

И. А. СТРОЕВА, Э. Я. ВАЙНОВСКА, З. Я. СНИЕДЗЕ, Ф. М. ЯРКУЛОВ,
В. А. ЧИЛИНГАРЯН, С. М. ГАЛЕТЕНКО, В. А. ХОЛЧЕНКОВ, Г. И. ПАСТУХ

Обобщены результаты работ по применению БИП в различных зонах СССР против листогрызущих чешуекрылых вредителей капусты и плодовых, проведенных в соответствии с планом Государственных испытаний биопрепаратов в 1977 г.

Ключевые слова: бактериальный препарат, микробиометод, чешуекрылые.

По результатам многолетних испытаний, БИП можно рекомендовать для широкого производственного применения на капусте против капустной и репной белянок и капустной моли младших возрастов.

Вредители капусты. Прибалтийская токсикологическая лаборатория (т. л.) ВИЗР провела испытания БИП в совхозе «Кекава» Рижского района Латвийской ССР на капусте сорта Амагер в фазе спелого кочана против гусениц репной белянки II—III возраста.

Обработку проводили ранцевым опрыскивателем ОРР-1. Число повторностей в опыте—4, площадь одной повторности 50 м², размещение делянок рандомизированное. Учет численности вредителей проводили на 25 растениях в каждой повторности. Среднее число гусениц перед обработкой равнялось 10—11 особям на 25 растений. Норма препарата на гектар—2—4 кг, расход рабочей жидкости 400 л/га. Эталон—энтобактерин, сухой порошок, при норме расхода 2 кг/га и расходе рабочей жидкости 400 л/га. Обработку проводили 22 августа, температура воздуха в день обработки—19°, в течение последующих 10 дней средняя температура воздуха была 14°, за декаду выпало 5,1 мм осадков. Окончательный учет эффективности проводили на 10-й день после обработки, техническую эффективность препарата вычисляли по формуле Франца. Результаты опыта приведены в табл. 1.

Из табл. 1 видно, что БИП обладает достаточно высокой эффективностью против репной белянки уже при норме расхода 2 кг/га, и использование более высоких дозировок против этого вредителя является нецелесообразным.

Дальневосточная т. л. ВИЗР проводила испытания БИП в совхозе № 44 на площади 0,06 га на поздней капусте сорта Амагер против гусениц репной белянки и капустной совки.

Таблица 1

Техническая эффективность БИП против репной белянки на капусте при различных нормах расхода (на 10-й день после обработки)

Препарат	Норма расхода, кг/га	Снижение численности вредителя с поправкой на контроль, % по дням учета		
		3-й	7-й	10-й
БИП	2	69,6	72,1	90,2
БИП	4	70,4	89,1	94,9
Энтобактерин	2	55,8	63,0	73,2

Обработку проводили ранцевым опрыскивателем. Число повторностей в опыте—4, каждая повторность—50 м². Учет численности вредителя проводили на 25 растениях в каждой повторности. Исходная численность вредителей не указана. Норма расхода препарата 5 кг/га, расход рабочей жидкости 600 л/га. Эталон—энтобактерин при равных нормах расхода. Результаты опытов показали, что техническая эффективность БИП на 10-й день после обработки была высокой против гусениц репной белянки—93,7% (для энтобактерина соответственно 93,2%). Против гусениц капустной совки эффективность БИП, как и энтобактерина, была весьма невысокой—35,2%, что отчасти можно объяснить использованием препарата против гусениц старших возрастов перед их окукливанием. В дальнейшем следует проводить испытания БИП против гусениц капустной совки в период их отрождения.

Армянская т. л. ВИЗР провела промежуточные испытания БИП в поселке Арамус Абовянского района на площади 4,5 га против репной белянки на капусте среднепозднего сорта. Возраст вредителя не указан.

Обработку проводили тракторным опрыскивателем ОВТ-1 9 сентября. Учет численности вредителя проводили на 50 кочанах в каждом варианте. Норма расхода препарата 2,5 кг/га, расход рабочей жидкости 600 л/га. Эталон—энтобактерин с прилипателем 2—05 и дендробациллин, сухой порошок, при тех же нормах расхода и хлорофос, 80%-ный сухой порошок, при норме расхода 1,2 кг/га. Определение технической эффективности проводили на 10-й день после обработки по формуле Франца. Результаты опыта приведены в табл. 2.

Из табл. 2 видно, что БИП не уступает по технической эффективности химическому эталону и дендробациллину, но дает несколько худшие результаты, чем энтобактерин.

Листогрызущие чешуекрылые вредители плодовых. Крымская т. л. ВИЗР проводила производственные испытания БИП после года хранения в условиях склада совместно с ядохимикатами. Испытания проводились в совхозе «Приморье» Нижегородского района Крымской области в широкорядном саду (с объемной кроной) на яблонях сортов Пармен зимний, Розмарин белый и Шафран летний посадки 1957 года, с размещением деревьев 8×8 м—156 деревьев на га.

Техническая эффективность БИП против гусениц репной белянки на капусте

Препарат	Норма расхода, кг/га	Снижение численности вредителя по дням учета с поправкой на контроль, %		
		3-й	5-й	10-й
Энтобактерин	2,5	43,0	74,0	78,7
БИП	2,5	28,6	71,7	70,7
Дендробациллин	2,5	28,5	72,1	71,3
Хлорофос, 80% с. п.	1,2	27,4	65,2	68,0

К моменту постановки опыта 17 мая яблонн опытного участка были сильно заражены пестрозолотистой листоверткой (*Archips xylosteana* L.) III—IV возраста, нередко встречались гусеницы кистехвоста обыкновенного I—II возраста, различных совок II—III возраста и пядениц I—II возраста.

Общая численность вредителей составляла 8—46 особей на 1 погонный метр ветвей.

Размер опытных делянок 17,5 га. Деревья обрабатывались машинной ОВС-А с улиткой таким образом, что каждый ряд сада опрыскивался с обеих сторон.

В каждом варианте опыта брали 10 модельных деревьев, расположенных в шахматном порядке, численность вредителей определяли на 4-х погонных метрах ветвей каждого из модельных деревьев. Норма расхода препарата 5 кг/га, расход рабочей жидкости 1800 л/га. Эталон—энтобактерин (также после года хранения) при равных нормах расхода. Определение технической эффективности проводили на 10-й день после обработки.

Среднесуточные температуры в период постановки опыта—17,6—20,6°, максимальная—25,5—29,1°. В день постановки опыта прошел небольшой дождь (0,5 мм), через сутки выпало 1,9 мм осадков, наблюдался частичный смыл препаратов. В конце опыта (7—9 день) обильный дождь (17,2 мм) полностью смыл препарат. Результаты опыта приведены в табл. 3.

Из табл. 3 видно, что ни БИП, ни энтобактерин не были эффективны против гусениц старших возрастов листовертки, живущих в свернутых листьях; что касается пяденицы, гусеницы которой к началу опыта находились в I—II возрастах и вели открытый образ жизни, то эффективность против нее была высокой и составила для БИП 94% на 10-й день опыта. Таким образом, можно сделать вывод, что БИП сохраняет свою высокую эффективность в течение года и его следует применять против гусениц листогрызущих вредителей младших возрастов, ведущих открытый образ жизни. Против скрытоживущих гусениц испытанные биопрепараты неэффективны.

Техническая эффективность БИП против листовертки пестрозолотистой
III—IV возраста и яденицы I—II возраста на яблоне

Препарат	Норма расхода, кг/га	Количество учтенных гусениц листовертки (яденицы) на одно дерево		Снижение численности гусениц с поправкой на контроль, %
		исходное	10-й	
БИП	5	67 (1)	77 (17)	0 (94,0)
Энтобактерин	5	111 (2)	132 (13)	0 (74,6)
Контроль	—	75 (5)	76 (128)	—

На основании предварительных данных ряда лет следует провести производственные испытания БИП против капустной совки в период ее отрождения и не старше II возраста при норме расхода препарата 2 кг/га и двукратной обработке через 5—7 дней с расходом рабочей жидкости 500 л/га.

Всесоюзный научно-исследовательский институт
защиты растений (ВИЗР)

Поступило 23.IV 1978 г.

ԲԻՊ ԲԱԿՏԵՐԻԱԿ ՊՐԵՊԱՐԱՏԻ ԷՖԵԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ ՏՆՐԵՎԱԿՐՈՐԿ ԹԵՓՈՒԿԱԹԵՎԱՎՈՐՆԵՐԻ ՆԿԱՏԱՐԱՄԸ

Ի. Ա. ՍՏՐՈՅԵՎԱ, Ե. Յա. ՎԱՅՆՈՎՍԿԱ, Զ. Յա. ՏՆԻԵԶԵ,
Ֆ. Մ. ՇԼԻՆԳԱՐԻԱՆ, Վ. Զ. ԶԵԼԵՆԿՈՎ, Ա. Մ. ԳՈԼՇԵՆԿՈՎ,
Վ. Ա. ԽՈԼՇԵՆԿՈՎ, Գ. Ի. ՊԱՍՏՈՒԽ

Միության տարբեր շրջանների փորձարկումների հիման վրա հաստատված է ԲԻՊ պրեպարատի բարձր էֆեկտիվությունը մի շարք թեփուկաթևավորների նկատմամբ: Առաջարկվում են պրեպարատի օգտագործման արդյունավետ դոզաները և ժամկետները:

EFFICIENCY OF BACTERIAL PREPARATION BIP FOR LEPIDOPTERA CONTROL

I. A. STROYEVA, E. Ya. VAINOVSKA, Z. Ya. SNIEDZE, F. M. YARKULOY,
V. H. CHILINGARIAN, S. M. GALETENKO, V. A. KHOLCHENKOV,
G. I. PASTUKH

The results of field tests of BIP and other bacterial insecticide preparations from *Bac. thuringiensis* have shown their high efficiency for lepidoptera pest control.

ДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНСЕКТИЦИДНЫХ
ПРЕПАРАТОВ БИП НА ЛИЧИНОК И ИМАГО БЛОХ
XENOPSYLLA CHEOPIS ROTHS.

В. Н. САВЕЛЬЕВ, М. П. КОЗЛОВ

Препараты БИП из культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* оказывают инсектицидное действие на личинок и имаго крысиных блох-переносчиков чумы. Наиболее эффективным оказался препарат БИП-811. Эффективность действия не снижается после семилетнего хранения препаратов.

Ключевые слова: бактериальные препараты, микробиометод, блохи.

В настоящее время на основе *Bac. thuringiensis* вырабатываются различные бактериальные препараты, предназначенные для борьбы с вредными насекомыми. Эффективность действия их на насекомых во многом определяется свойствами кристаллогенов, составляющих основу бактериального инсектицида.

Африкян, Чил-Акопян [2] выделили из почвы *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, отличающийся от известных кристаллогенов сравнительной устойчивостью к действию фагов и большей патогенностью к вредным насекомым. На основе культур этой разновидности изготовлены инсектицидные препараты под названием БИП, которые оказались высоко эффективными в отношении листогрызущих насекомых.

Нами проведено испытание биологических инсектицидных препаратов на личинок и имаго крысиных блох в лабораторных условиях.

Материал и методика. Образцы инсектицидных препаратов (БИП-805, БИП-811, БИП-837) любезно предоставлены нам Институтом микробиологии АН АрмССР. Эти препараты приготовлены в 1965 г., титр препаратов—20 млрд. спор на 1 г.

Действие БИП-ов испытывали на личинках блох *X. cheopis* I—III возрастов. К первому возрасту относили личинок, вылупившихся из яиц блох в течение суток. Личинок, вылупившихся из других яйцеклеток, оставляли в песке с кормом (альбумин с дрожжами) до достижения ими II и III возраста. Заражение личинок блох осуществляли следующим образом. К отобраным в чашку Петри личинкам добавляли 3 г песка, а затем предварительно растертую смесь из определенного количества бактериального инсектицида и 0,1 г альбумина с дрожжами. В контрольной чашке Петри содержали личинок того же возраста с теми же ингредиентами, исключая биологические инсектициды. Личинок блох I—III возрастов заражали различными дозами препаратов: от 3,75 до 30—60 мг/г субстрата. Погибших личинок подсчитывали ежедневно до завершения процесса окукливания. Учитывали также количество вышедших из коконов имаго в опыте и контроле.

Для изучения действия биологических инсектицидных препаратов на имаго крысиных блох последних содержали в субстрате, зараженном препаратами в дозах 7,5; 15; 30; 60 мг/г субстрата. Эктопаразиты, помещенные в свободный от препаратов суб-

страт, служили контролем. Учитывали выживаемость блох и длительность сохранения в них микробов, для чего проводили бактериологические исследования павших насекомых. Для удаления микрофлоры с паружных покровов блох их обрабатывали 6%-ной перекисью водорода, а затем троекратно отмывали стерильным физиологическим раствором.

Эффективность испытанных доз инсектицидов для личинок и имаго крысиных блох вычисляли по формуле Аббота [3]. Величину ЛД₅₀ препаратов по отношению к личинкам и имаго блох рассчитывали по формуле Керсера в модификации Ашмарина и Воробьева [1]. Для определения ЛД₅₀ на одну заражающую дозу препаратов брали по 30—40 личинок. Опыт вели в трех повторностях. Заражение личинок биологическими инсектицидными препаратами и учет погибших личинок осуществляли так же, как и при определении эффективности данных препаратов. Величина ЛД₅₀ означает 50%-ную гибель личинок или имаго блох при концентрации биологического инсектицида из расчета на 1 г субстрата.

Результаты и обсуждение. Проведенными исследованиями установлено, что эффективность испытанных доз биологических инсектицидов зависит как от возраста личинок, так и от качества самого препарата. Так, эффективность дозы 30 мг/г субстрата трех испытанных препаратов для личинок I возраста составила 48—86, для личинок II возраста—30—58, III—23—32% (табл. 1). Доза биологических инсектицидных препаратов 15 мг/г субстрата вызвала гибель 34—58% личинок I возраста. Та же доза вызвала гибель только 24—49 и 17—23% личинок соответственно II и III возрастов. Эффективность изучаемых препаратов в дозе 7,5 мг/г субстрата была выше 50% для личинок I воз-

Таблица 1

Гибель личинок блох *X. cheopis* разного возраста от различных доз препаратов БИП, %

Название препаратов	Возраст личинок	Величина испытанных доз, мг/г субстрата				
		60	30	15	7,5	3,75
БИП—805	I	—	66	52	34	27
БИП—811		—	86	58	52	51
БИП—837		—	48	34	29	18
БИП—805	II	—	48	49	33	27
БИП—811		—	58	46	47	31
БИП—837		—	30	24	25	17
БИП—805	III	64	32	23	27	27
БИП—811		31	17	16	4,3	4,3
БИП—837		33	23	17	10	10

Примечание: в контрольном и опытных вариантах использовано по 300 личинок каждого возраста.

раста и ниже 50%—для личинок II и III возрастов. Минимальная из испытанных доз биологических препаратов (3,75 мг/г субстрата) оказалась эффективной для личинок I возраста только в 18—51%, а для личинок II и III возрастов всего лишь соответственно в 17—31% и 4,32—27%. Наибольший эффект получен при действии БИП-811; при обработке в зависимости от дозы погибло 51—86 и 31—58%, взятых в опыт со-

ответственно личинок I и II возрастов. Под воздействием БИП-805 и БИП-837, взятых в тех же дозах, погибло только 27—66 и 14—48% (I возраст), 27—48 и 17—30% (II возраст) личинок. Пытаясь повысить эффективность действия изучаемых биологических инсектицидных препаратов на личинки III возраста, мы увеличили заражающую дозу препаратов до 60 мг/г субстрата, добившись 64%-ной эффективности при БИП-805.

Оценивая активность биологических инсектицидных препаратов, мы определили ЛД₅₀ для каждого возраста личинок блох. Из данных, представленных в табл. 2, следует, что ЛД₅₀ этих инсектицидов увели-

Таблица 2

ЛД₅₀ биологических инсектицидных препаратов для личинок крысиной блохи различного возраста

Возраст личинок	Величина ЛД ₅₀ , мг/г субстрата		
	БИП-805	БИП-811	БИП-837
I	12	8	17
II	14	12	22
III	31	53	48

чивается с возрастом личинок. Так, половинная смертельная доза бактериальных препаратов для личинок I возраста составила 8—17, II возраста—12—22, III—31—53 мг/г субстрата. Инсектицид БИП-811 по отношению к личинкам блох I и II возрастов оказался более патогенным по сравнению с БИП-805 и БИП-837 (ЛД₅₀ БИП-811 составила 8—12 против 12—14 у БИП-805 и 17—22 мг/г субстрата у БИП-837). Однако БИП-811 по отношению к личинкам III возраста по степени патогенности слабее БИП-805 и БИП-837.

Оценивая изучаемые биологические инсектицидные препараты, мы сравнили ЛД₅₀ с такой же величиной энтобактрина-3 по отношению к личинкам I—III возрастов крысиной блохи. Как следует из рис. 1, значение ЛД₅₀ для БИП-811 наиболее близко к половинной смертельной дозе энтобактрина для личинок I и II возрастов. ЛД₅₀ у БИП-805 и БИП-837 для личинок I и II возрастов в 1,5—2 раза выше, чем у энтобактрина. При действии на личинок III возраста БИП-805 превосходит, а БИП-837 и БИП-811 несколько уступают энтобактрину-3.

Патогенное действие испытанных инсектицидных препаратов на имаго блох зависит от дозы и длительности контакта членистоногих с этими препаратами. Так, эффективность действия их на 3-и сутки контакта блох составила всего 1—7 (БИП-805), 19—29 (БИП-811) и 4—10% (БИП-837), а на 6-е сутки—31—79 (БИП-805), 38—77 (БИП-811), 35—60% (БИП-837) (табл. 3). Эффективность влияния достигла максимума на 9-е сутки—54—82 (БИП-805), 87—94 (БИП-811), 64—72% (БИП-837) в зависимости от заражающей дозы.

Оценивая биологическую активность изучаемых препаратов по ве-

личине ЛД₅₀, можно прийти к выводу, что наиболее эффективным в отношении имаго блох является БИП-811, затем БИП-805 и БИП-837 (табл. 4). Из этой же таблицы видно, что половинная смертельная доза препаратов уменьшается в зависимости от длительности контакта имаго с изучаемыми инсектицидами.

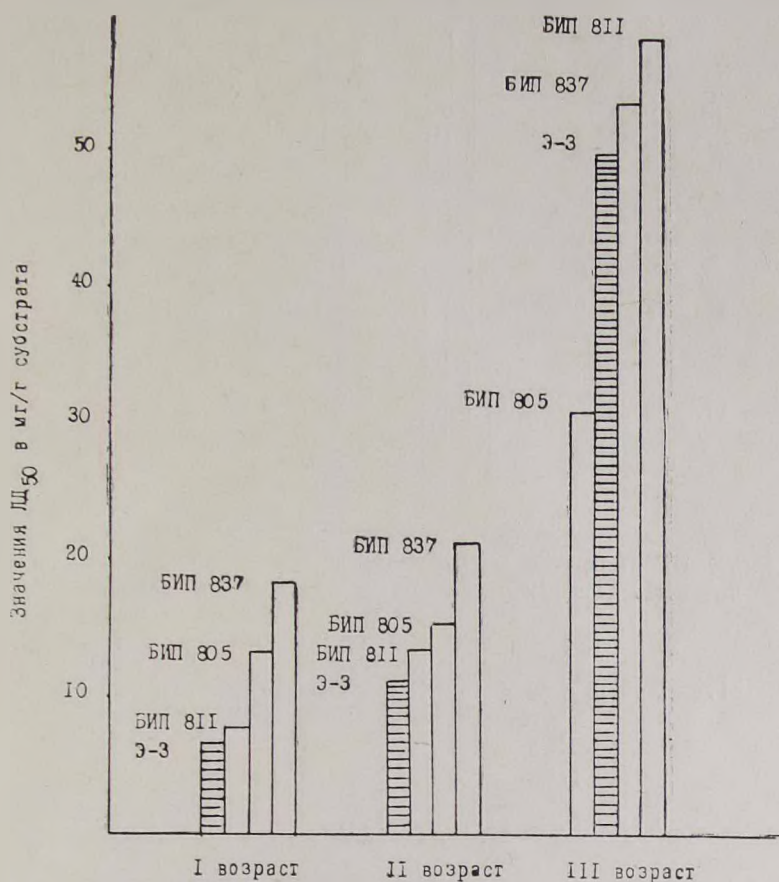


Рис. 1. Значения ЛД₅₀ биологических инсектицидов для личинок блох.
Применение: Э-3—энтобактерин-3.

Сравнивая патогенность различных биологических инсектицидов, следует отметить, что БИП-811 превосходит по действию на имаго блох энтобактерин (ЛД₅₀=5 мг/г субстрата против 10,5 мг/г субстрата у коммерческого энтобактерина), а БИП-805 и БИП-837 незначительно уступают ему (рис. 1, 2).

Исследования показали, что по действию на личинки и имаго крысиных блох биологические инсектицидные препараты могут быть расположены в порядке эффективности: БИП-811, БИП-805, БИП-837. Следует подчеркнуть, что эффективность изученных препаратов, срок давности которых равен семи годам, оказалась на уровне действия коммерческого энтобактерина (срок давности 2 года) на те же стадии.

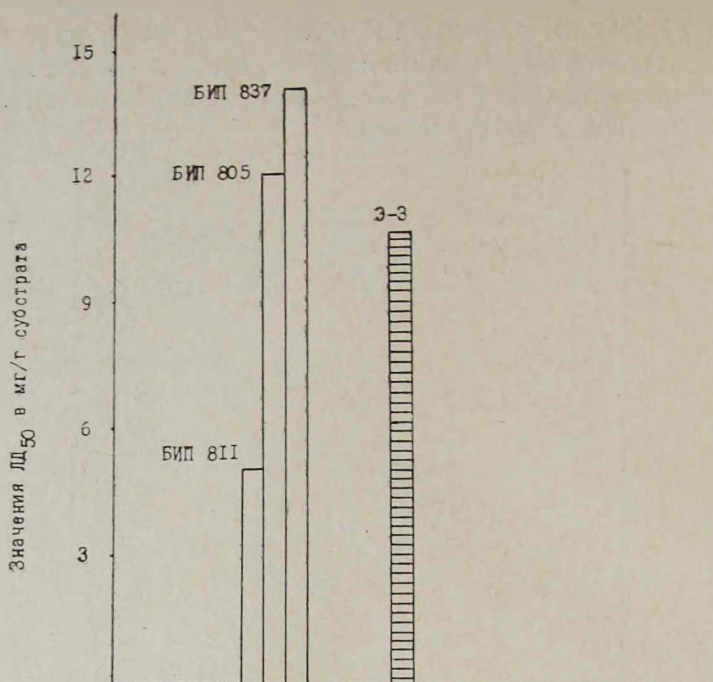


Рис. 2. Патогенность в отношении имаго блох биологических инсектицидных препаратов и коммерческого энтобактерина по величине LD_{50} .

Таблица 3
Гибель имаго блох *X. cheopis* от различных доз препаратов БИП
в зависимости от времени контакта

Дозы, мг/г	П р е п а р а т ы		
	БИП-805	БИП-811	БИП-837
Эффективность препаратов за 3 суток контакта, %			
60	7	29	10
30	3	23	8
15	2	17	6
7,5	1	19	4
Эффективность препаратов за 6 суток контакта, %			
60	79	77	60
30	56	57	52
15	33	57	51
7,5	31	38	35
Эффективность препаратов за 9 суток контакта, %			
60	82	94	72
30	77	91	69
15	54	89	65
7,5	71	87	64
Всего: блох	1500	1500	1500

Т а б л и ц а 1

ЛД₅₀ биологических инсектицидных препаратов для
имаго крысиной блохи

Время контакта имаго с инсектици- дом, сутки	Величина ЛД ₅₀ , мг/г субстрата, для препаратов		
	БИП-805	БИП-811	БИП-837
6	21,4	19,7	21,5
9	12	5	14

Полученные данные позволяют рекомендовать биологические инсектицидные препараты серии БИП, наряду с коммерческим энтобактерином, для испытания в полевых условиях против блох—переносчиков чумы.

Научно-исследовательский противочумный
институт Кавказа и Закавказья

Поступило 21.VI 1978 г.

ԲԱԿՏԵՐԻԱԿ ԻՆՍԵԿՏԻՑԻԴ ՊՐԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ XENOPSYLLA CHEOPIS ROTH. ԼՎԵՐԻ ՎՐՍ.

Վ. Ն. ՍԱՎԵԼԵՎ, Մ. Պ. ԿՈՉԼՈՎ

Հաստատված է, որ առնետային լվերի նկատմամբ *Bac. thuringiensis* կոկտորաններից ստացված պրեպարատներն օժտված են ինսեկտիցիդային ակտիվությամբ: Ավելի բարձր էֆեկտիվություն է նկատվել *caucasicus* այլատեսակից ստացված պրեպարատների՝ հատկապես ԲԻՊ-811 օգտագործման դեպքում:

STUDY OF ACTION OF BACTERIAL INSECTICIDE PREPARATIONS BIP ON LARVAE AND IMAGO OF XENOPSYLLA CHEOPIS ROTH.

V. N. SAVELIEV, M. P. KOZLOV,

Insecticide action of preparations from *Bacillus thuringiensis* var. *caucasicus* against *Xenopsylla cheopis* Roths. has been revealed. More efficient among preparations tested was BIP-311.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., 1962.
2. Африкян Э. К., Чил-Акопян Л. А. ДАН АрмССР, 47(4), 227, 1968.
3. Muller—Kogler E. Pilzkrankheiten bei Insecten, Berlin, 1965.

ИЗУЧЕНИЕ АРГИНАЗЫ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ БАЦИЛЛ

Ю. Г. ПОПОВ, С. В. ЧУБАРЯН

Имеющиеся в литературе данные по аргиназе аэробных спорообразующих бактерий немногочисленны [2—4, 6]. Немногочисленны также исследования по очистке аргиназы бацилл [7—9]. Изучение распространения аргиназной активности у культур разных видов спорообразующих бактерий предпринято с целью выявления наиболее активных по аргиназе штаммов, а также выяснения возможности применения аргиназного теста для таксономических целей.

Материал и методика. Объектами исследований служили 90 культур из коллекции аэробных спорообразующих бактерий Института микробиологии АН АрмССР, представлявших 20 разных видов бацилл. Для изучения аргиназной активности использовались односуточные культуры, выращенные на МПА; ферментативная активность устанавливалась по образованию мочевины, модифицированным Храмовым двацилльным методом Фирона [2]. При очистке аргиназы культура *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* ИНМИА-837, выращенная в МПБ в аэрируемых условиях на круговой качалке, разрушалась прессом. Аргиназная активность полученного ферментного препарата определялась по методике, описанной в работе Давтяна и др. [1]. Белок определялся спектрофотометрически на СФ-4А при длине волны 280 нм и методом Лоури и др. [5].

Результаты и обсуждение. Первоначально на аргиназную активность было испытано 48 штаммов 20 видов бацилл в основном по два штамма каждого вида. У большинства видов проявлялась в той или иной степени аргиназная активность, и только у четырех штаммов (обоих испытанных штаммов *Bac. polytuxa* и по одному из двух штаммов *Bac. circulans* и *Bac. macerans*) эта активность не установлена. В последующем нами была определена аргиназная активность еще 30 имевшихся в коллекции Института микробиологии штаммов *Bac. polytuxa*. Среди испытанных таким образом 32-х штаммов *Bac. polytuxa* заметная аргиназная активность обнаруживалась только у семи штаммов, отличающихся от остальных пигментацией, консистенцией, поверхностью колоний и способностью вращаться в агар.

Наибольшую аргиназную активность проявили все восемь испытанных штаммов *Bac. sphaericus* и шесть—*Bac. thuringiensis*. Учитывая высокую аргиназную активность последних и наличие разработанной технологии их выращивания в производственных условиях при получе-

нии инсектицидного препарата БИП, нами была предпринята попытка очистить аргиназу у одного из этих штаммов—*Bac. thuringiensis* var. *causasicus* ИНМИА-837.

Предварительно активность аргиназы была определена в различных фракциях гомогената (осадок, надосадочная жидкость) и изучено влияние ионов марганца на активность фермента (табл. 1). Из данных таблицы видно, что активность фермента более выражена в надосадочной жидкости, причем ионы марганца сильно стимулируют активность аргиназы в обеих фракциях.

Очистка аргиназы осуществлялась с некоторыми модификациями по схеме, предложенной Накамура и др. [7] для *Bac. subtilis*.

Таблица 1
Влияние ионов марганца на аргиназную активность
в различных фракциях гомогената

Фракция гомогената	Mn ⁺⁺	Общая активность, мМк мочевины
Осадок	—	8,3
	+	177,6
Супернатант	—	17,3
	+	275,4

Промытые дистиллятом клетки бактерий замораживали в течение 18—20 ч при —20° и разрушали прессом. К разрушенной биомассе добавляли 10 мл 0,5 М фосфатного буфера при pH 8,0 и экстрагировали фермент в течение одного часа при постоянном перемешивании на магнитной мешалке. Гомогенат центрифугировали при 10000 g в течение 20 мин. К надосадочной жидкости (14 мл) по каплям добавляли 1,32 мл 1 М раствора MnCl₂, pH приводили к 8,0 5 М раствором КОН. После 30-минутного перемешивания на магнитной мешалке смесь центрифугировали при 10000 g 20 мин. Образовавшийся неактивный осадок выбрасывался. Полученную после обработки марганцем надосадочную жидкость нагревали в течение 60 мин при 50°. После охлаждения ее центрифугировали при 10000 g 20 мин для удаления неактивного осадка. Однако термическая обработка для нашей культуры оказалась неэффективной, поскольку общая активность фермента подавлялась почти в два раза, а удельная—не менялась. Поэтому в последующем этап термической обработки был исключен и к надосадочной жидкости сразу после обработки марганцем при перемешивании добавляли н-пропиловый спирт до 20%-ного насыщения. Смесь охлаждалась льдом с солью (1:1). Образовавшийся неактивный осадок удалялся центрифугированием при 10000 g 20 мин. Дальнейшее насыщение пропанолом до 50% не приводило к образованию ожидаемого, согласно Накамура и др. [7], активного осадка.

После 20%-ного насыщения пропанолом надосадочная жидкость оставалась при —20° в течение 18—20 ч. Образовавшийся осадок удалялся центрифугированием при 25000 g в течение 30 мин. Для освобождения от пропанола надосадочную жидкость пропускали через колонку с сефадексом G-50 (1,8×50 см), уравновешенным 0,1 М трис-ацетатным буфером (pH 8,0), содержащим 5 мМ L-треонина и 1 мМ MnCl₂, которые, по литературным данным, стабилизируют фермент [7, 9]. Элюция проводилась тем же буфером. Активными оказались 8—11 фракции, при объеме каждой фракции 5 мл.

Смесь активных фракций подвергалась высаливанию сульфатом аммония в присутствии аргинина (20 мМ в 1 мл). Насыщение до 40% приводило к выпадению неактивного белкового осадка, удаляемого центрифугированием при 25000 g 30 мин. При последующем 70%-ном насыщении выпадал активный осадок. Собранный центрифугированием при том же режиме активный осадок суспендировался в 3 мл указанного

Этапы очистки аргиназы
Bac. thuringiensis var. *causaticus* ИНМИА--837

Этап обработки	Общий белок, мг	Общая актив-ность, мкМ мочевины	Удельная актив-ность, мкМ мочевины/мг белка	Выход, %	Степень очистки
Гомогенат	482,0	8492	17,6	100	—
Бесклеточный экстракт	151,2	6319	41,7	74,4	2,3
Обработка марганцем	101,2	6415	63,4	75,5	3,6
Обработка пропанолом	46,7	4920	105,3	57,9	6,0
Обработка холодом	27,8	4116	147,8	48,5	8,2
Гельфильтрация	16,1	5292	328,0	62,3	18,6
Высаливание сульфатом аммония (40--70%)	5,1	2859	562,0	33,7	31,9

буфера, ч пропускался через колонку с сефадексом G-50 (1,8×30), уравновешенным указанным буфером, для удаления сульфата аммония. Элюирование проводилось тем же буфером, аргиназная активность обнаруживалась во фракциях 7 и 8.

Результаты, полученные на каждой стадии очистки, приведены в табл. 2. Разработанный метод очистки аргиназы из *Bac. thuringiensis* var. *causaticus* ИНМИА-837 позволил достигнуть степени очистки 31,9 с 33,7%-ным выходом.

Высокоактивные по аргиназе культуры бактерий, в частности штаммы *Bac. thuringiensis* var. *causaticus*, перспективны для использования в качестве продуцентов этого фермента.

Греванский государственный университет, кафедра физиологии
и анатомии растений, кафедра биохимии

Поступило 17.I 1980 г.

ԷՆՏՈՄՈՒԱԹՈՒԵՆ ԲԱՅԻՆՆԵՐԻ ԱՐԳԻՆԱԶԱՅԻ ՈՒՅՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒՄԸ

Յու. Դ. ՊՈՊՈՎ, Ս. Վ. ԶՈՒԲԱՐԱՆ

Ուսումնասիրվել է սպորառաջացնող բակտերիաների արգինազային ակ-
տիվությունը տարբեր կուլտուրաների մոտ՝ ակտիվ շտամներ հայտնաբերելու
և արգինազային տեսքը տաքսոնոմիական նպատակով կիրառելու համար:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Давтян М. А., Чубарян С. В., Туманян Л. Р. Биолог. ж. Армении, 32, 906, 1979.
2. Храмов В. А., Галаев Ю. В. Лабораторное дело, 1, 50, 1971.
3. Broman K., Lauwers N., Stalon V., Wiame J.—M. J. Bacteriol., 135, 920, 1976.
4. Laishley E. J., Bernlohr R. W. J. Bacteriol. 96, 322, 1968.
5. Lowri O. H., Rosenbrough N. Y., Farr A. L., Randall R. Y. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
6. Mitruka B. M., Costilow R. N. J. Bacteriol., 93, 295, 1967.
7. Nakamura N., Fujita M., Kimura K. Agr. Biol. Chem., 37, 2827, 1973.
8. Ramaley R. F., Bernlohr R. W. J. Biol. Chem., 241, 620, 1966.
9. Simon J. P., Stalon V. Biochimie, 58, 1419, 1976.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 632.937

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ
КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS*
В БОРЬБЕ С ВРЕДИТЕЛЯМИ САДА

Т. Н. НОВИЦКАЯ, Л. Г. ДЖОЛНЯ

В течение ряда лет в условиях Восточной Грузии нами проводилось изучение сравнительной эффективности некоторых бактериальных препаратов (сухих), в том числе из культур *Bacillus thuringiensis* var. *causicus*, штаммы 805, 811, 837, полученных в Институте микробиологии АН АрмССР.

Материал и методика. Основным объектом для исследования служила яблонная моль (*Hyponomeuta malinellus* Zach.) как наиболее восприимчивый к заражению энтомопатогенными микроорганизмами вредитель. Эталон служил энтомобактерии в двух формах (энтобактерин—3 сухой и жидкий). Эффективность биопрепаратов определялась в полевых мелкоделяночных опытах, всего на площади один гектар, в Варинском совхозе Горнийского района. Балл заражения деревьев—высокий.

Опыты проводились в период 20—30 мая в основном против гусениц III возраста при благоприятной для активного действия бактериальных препаратов среднесуточной температуре около 20°, что повышало заражаемость и гибель гусениц.

Применяли ранцевый моторный опрыскиватель марки «Фонтан» (ФРГ). Расход рабочей жидкости составлял 5 л на 1 дерево, расход бактериальных препаратов—5 кг/га при концентрации 0,5% и 10 кг/га—при концентрации 1%.

Для определения эффективности препаратов подсчитывалось количество живых и мертвых гусениц в 20—35 гнездах, взятых в различных местах кроны для каждого варианта. Учеты проводились на 5, 10, 20-й дни.

Результаты и обсуждение. Опыты показали высокую техническую эффективность всех испытанных препаратов (табл.). Максимальная гибель гусениц яблонной моли наблюдалась спустя 10 дней после обработки. Из трех препаратов (БИП-805, БИП-811, БИП-837) лучшие результаты дало применение препарата на штамме 837, при этом гибель гусениц достигала 87,1% при 0,5%-ной концентрации и 88,2%—при концентрации 1%. Незначительно уступал по эффективности препарат на штамме 811 (81,1 и 80,5% гибели соответственно при отмеченных концентрациях), менее эффективным оказался препарат на штамме 805 (65,1 и 70,1% гибели гусениц). В то же время при использовании сухого препарата энтобактерина гибель гусениц была равна соответственно 90,4 и 100%.

Полученные данные показали, что повышенные концентрации от 0,5 до 1% вызывало увеличение гибели вредителя, однако не в такой степени, чтобы иметь практическое значение, принимая во внимание экономическую сторону расхода биопрепарата.

Таблица

Результаты испытания бактериальных инсектицидных препаратов
против яблонной моли

Наименование биопрепарата	Концентрация %	I учет на 5-й день		II учет на 10-й день	
		число гнезд в пробах	средний % гибели гусениц	число гнезд в пробах	средний % гибели гусениц
БИП—837	0,5	27	64,1±0,25	22	87,1±0,4
БИП—837	1,0	22	78,3±0,29	21	88,2±0,32
БИП—811	0,5	29	61,2±0,21	20	81,1±0,35
БИП—811	1,0	33	70,1±0,24	24	80,5±0,29
БИП—805	0,5	31	45,8±0,15	26	65,1±0,20
БИП—805	1,0	35	46,5±0,18	30	70,1±0,22
Энтобактерин-3 сухой	0,5	25	80,8±0,31	21	90,4±0,40
Энтобактерин-3 сухой	1,0	20	93,1±0,42	24	100
Энтобактерин-3 жидкий	0,5	28	81,4±0,28	22	88,6±0,33
Контроль	—	32	3,4±0,05	25	6,2±0,03

Эффективность применения всех бактериальных препаратов на 20-й день снижалась почти вдвое, по сравнению с предыдущим учетом (на 10-й день), однако полной детоксикации не наблюдалось.

Необходимо отметить, что после обработки яблони биопрепаратом уже на третий день в гнездах легко можно было заметить почерневших гусениц моли, большинство гусениц было вялым и прекращало питание. Спустя 10 дней оставшиеся в живых гусеницы питались нормально, и никаких признаков действия на них бактериальных препаратов не наблюдалось. Некоторые гусеницы погибали в период образования коконов, а также отмечалась гибель в фазе куколки.

Таким образом, все испытанные препараты являются эффективными в отношении гусениц яблонной моли в нормах расхода 5 кг/га. Проведенные испытания доказали перспективность их применения в условиях Восточной Грузии. Принимая во внимание также безвредность их для человека, теплокровных и полезных насекомых, есть все основания рекомендовать эти препараты для широкого практического применения в борьбе с листогрызущими вредителями плодового сада.

Грузинская токсикологическая лаборатория
Всесоюзного института защиты растений

Поступило 19.V 1978 г.

BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS
ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՊՐԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄՆ
ԱՅԳԻՆԵՐԻ ՎՆԱՍԱՏՈՒՆԵՐԻ ԴԵՄ

Տ. Ն. ՆՈՎԻԶԿԱՅԱ, Լ. Գ. ԶՈԼԻԱ

Փորձարկումները *ցույց* են տվել, որ ԲԻՊ-805, 811, 837 պրեպարատները 5 կգ/հա քանակությամբ էֆեկտիվ են արևելյան Վրաստանի պայմաններում մրգատու ալգիների թեփուկաթևավորների վնասատուների դեմ պայքարելու համար:

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS К ХВОЕ- И ЛИСТОГРЫЗУЩМ НАСЕКОМЫМ

И

В. М. ГУКАСЯН, А. Б. ГУКАСЯН

Одним из опасных первичных вредителей хвойных лесов Сибири и Дальнего Востока является сибирский шелкопряд—*Dendrolimus sibiricus* Tsch. tv., который распространен от Урала до Дальнего Востока, включая Курильские острова и остров Сахалин.

Сибирский шелкопряд размножается в массовом масштабе. Громадные очаги поражения имеются в лесах Западной и Восточной Сибири. Борьба с ним проводится путем применения ядохимикатов. Практика показала, что наилучшие результаты дает применение ДДТ против гусениц только младших возрастов (I и II), а использование ядохимикатов против гусениц старших возрастов мало эффективно. Учитывая, что ядохимикаты вредны для людей, животных и полезной фауны леса, его применение в массовом масштабе сильно ограничено. В последние годы все больший размах получил бактериальный метод борьбы с сибирским шелкопрядом.

Идея использования микроорганизмов против вредных насекомых предложена И. И. Мечниковым. В 1879 г. он применил зеленую мускардину против хлебного жука. О возможности использования болезнетворных агентов в качестве регуляторов численности насекомых-вредителей писал в 1899 году И. Мороз, наблюдавший «фляшерии» среди насекомых в лесах Иркутской губернии. В эти же годы И. Васильев отмечал массовую гибель сибирского шелкопряда от «фляшерии».

В 1956 году Е. В. Талалаевым был впервые подробно описан возбудитель септицемии гусениц сибирского шелкопряда, названный им *Bacillus dendrolimus* Tal. В таежных лесах бассейна р. Чулым был описан другой возбудитель болезни гусениц сибирского шелкопряда и назван *Bac. tuviensis* Kras. et Guk [2], а в 1963 году выделен *Bac. insectus* [1].

Бактериологический метод борьбы с точки зрения практического использования имеет ряд преимуществ перед химическим. Микробиологический метод позволяет производить инфицирование объекта также

при часто выпадающих атмосферных осадках. Кроме того, этот метод предлагает возможность самостоятельного распространения однажды внесенной инфекции среди насекомых.

Материал и методика. В качестве агента, поражающего насекомых, был использован бактериальный препарат из культур новой разновидности—*Bac. thuringiensis* var. *saucasicus* (штаммы 805 и 811), любезно предоставленный Институтом микробиологии АН АрмССР. Многочисленные испытания показали высокую вирулентность штамма 805 и его бактериального препарата в отношении многих чешуекрылых насекомых—вредителей леса.

Инфицирование хвой кедр, ели, сосны, лиственницы в лабораторных условиях показало, что вредитель гибнет в массе (90—92%). Это дало нам возможность продолжать опыты в непосредственных очагах сибирского шелкопряда. Были выбраны очаги вредителей, по плотности достигавшие 300—600 личинок на 1 модельное дерево. Опыты проводились на молодых деревьях высотой 5—7 м. Деревья инфицировали ранцевым опрыскивателем РЛО-1.

Патоген наносили на модельное дерево методом сплошного опрыскивания рабочим раствором бактериального препарата из расчета 20 л/га в концентрации 1 млрд/мл. При пересчете на сухой концентрат норма расхода на 1 га леса составляла 500 г порошка.

Для выяснения равномерности попадания бактерий на поверхность хвои лиственницы и проницаемости через всю крону, а также качественной обработки лесных массивов под ярусами деревьев были расставлены чашки Петри с МПА и планшеты. После инфицирования хвои чашки культивировались при температуре 27—28°. Выросшими на поверхности агара колониями заражали здоровых гусениц и по их гибели судили о наличии возбудителя. Кроме того, возбудитель диагностировался микроскопическим путем—по характерному образованию параспоральных телец (кристаллов).

Учитывалось количество гусениц на дереве, в том числе погибших и условно здоровых. Полный учет достигался подбором павших гусениц на опущенную площадку в проекции кроны.

Результаты и обсуждение. Результаты работ показали, что гибель гусениц в летном году составляла 90%. В то же время гибель гусениц младших возрастов I и II достигала 100% (в контроле—5%).

Погибшие от первичного инфицирования хвои гусеницы были подвергнуты лабораторным анализам с последующим заражением здоровых особей. Картина болезни гусениц в межлетний год имеет свою специфику и отличается своими симптомами в летном году.

Трупы гусениц в летном году долгое время сохраняются на деревьях и могут служить источником вторичного инфицирования и вызвать гибель здоровых особей до 65%. Установлено, что при инфицировании гусениц перед окукливанием они гибнут в стадии куколок, не достигая стадии бабочек.

Спустя месяц после инфицирования на тех же участках и теми же методами проводился учет погибших и живых куколок.

Выяснилось, что инфицированные гусеницы перед окукливанием гибнут в стадии куколок почти полностью. Погибшие куколки в коконах полностью разлагаются, выделяя черно-буроватую жидкость, от чего чернеет нижняя часть коконов (на дереве).

С целью оценки качества бактериального препарата в инфицированных участках были выбраны модельные деревья, на которых было подсчитано общее количество живых гусениц сибирского шелкопряда.

Лесной полог над деревьями был снят и очищен в проекции кроны. После инфицирования учет гусениц велся только путем снятия мертвых экземпляров. За остальными гусеницами проводилось наблюдение до стадии окукливания. По вылетевшим бабочкам (экзuviaм) судили о проценте гибели гусениц в стадии куколок.

Результаты опытов показали, что процент гибели шелкопряда в стадии гусениц и куколок достигает 92,6. При этом общий процент гибели вредителя в контрольном участке составил 2.

Для оценки эффективности бактериального препарата представляет интерес вторичное инфицирование гусениц (заражение здоровых гусениц от погибших).

С этой целью был поставлен следующий опыт. На неинфицированное дерево были выпущены 100 здоровых гусениц, затем к ним подсажены трупы гусениц, погибших от *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Выяснилось, что гибель гусениц от вторичного инфицирования наступает на 8-й день, процент гибели составляет 70—80 и возрастает при увеличении количества подсаженных трупов.

Большой практический интерес в производственных условиях представлял вопрос о продолжительности сохранения вирулентных свойств возбудителя на хвое.

Через каждые три дня исследовалась хвоя из инфицированного очага. На поверхность агара накладывалось не менее 150 хвоинок. При наличии возбудителя заражали здоровых гусениц, а по их гибели судили о наличии вирулентности.

Степень сохранения вирулентности патогена проверяли следующим образом. На инфицированную листовицу выпускались 100 здоровых гусениц. Через 15 дней производили учет гибели вредителя. Дерево полностью освобождалось от гусениц (как мертвых, так и живых), и на него вновь выпускались здоровые гусеницы. Дальнейшие опыты и учеты производили через каждые 15 дней в течение четырех месяцев. По гибели гусениц судили о степени сохранения вирулентности на хвое.

Результатами проведенных исследований установлено, что в течение четырех месяцев испытанный препарат БИП сохраняется на поверхности хвои, не теряя вирулентности в отношении гусениц. Гибель гусениц за указанное время достигала 90%.

На основании проведенных опытов можно заключить, что бактериальный инсектицидный препарат, разработанный Институтом микробиологии АН АрмССР на основе энтомопатогенной культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, следует считать эффективным и перспективным средством борьбы против сибирского шелкопряда.

Красноярский государственный университет,

Институт леса и древесины
Сибирского отделения АН СССР

Поступило 26.I 1979 г.

BACILLUS THURINGIENSIS ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ
ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՓՇԱՏԵՐԵՎԱ-ՏԵՐԵՎԱԿՐԾՈՂՆԵՐԻ ՀԱՆԴԵՊ

Վ. Մ. ՂՈՒԿԱՍՅԱՆ, Ա. Բ. ՂՈՒԿԱՍՅԱՆ

Բիոլ. բակտերիալ ինսեկտիցիդային պրեպարատը, օգտագործվել է սիրիական շերամորդի դեմ պայքարելու նպատակով: Հաստատված է, որ պրեպարատի օգտագործումը 1 հա 20 լ դոզայով (1 մլրդ սպոր 1 մլ խտությամբ լուծույթով) բերում է 90—92% մահացություն:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Гукасян А. Б. АН СССР, сер. биол., 1, 1963.
2. Красильников Н. А. и Гукасян А. Б. Микробиология, 33, 4, 1964.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ BACILLUS THURINGIENSIS VAR. CAUCASICUS В ЛАТВИИ

Р. Я. ЦИНТИС

Различные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis* по-разному действуют на насекомых, в зависимости от абиотических факторов среды [2—5]. Поэтому значительный интерес представляло испытание новых инсектицидных препаратов из трех разных штаммов (805, 811, 837) бактерий разновидности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, предложенных Институтом микробиологии АН АрмССР, в борьбе с вредителями в условиях Прибалтики. Как известно, на основе указанных штаммов разработано получение новых бактериальных инсектицидных препаратов БИП-805, БИП-811, БИП-837 [1].

Материал и методика. В 1965 г. биопрепараты испытывались против гусениц капустной, репной белянок и яблонной моли. Для борьбы с гусеницами белянок было заложено 3 лабораторных и один полевой опыт. В лабораторных опытах использовали гусениц капустной белянки третьего возраста, которым в изоляторах предлагали корм (листья капусты), смоченный суспензией биопрепаратов. В контроле листья смачивались водой. Обработанный корм обсушивали, а затем раскладывали по изоляторам. На второй и последующие дни его заменяли свежими необработанными листьями капусты. В каждом изоляторе содержалось по 10 гусениц капустной белянки. Повторность опытов 5-кратная. Учет живых и мертвых гусениц проводили ежедневно в течение 11 дней. Средняя температура воздуха во время проведения опытов была соответственно по опытам 16,1, 18,5 и 13,0°, относительная влажность—40%. Биопрепараты применялись в концентрации 0,5%, за исключением первого лабораторного опыта, где концентрация суспензии была 0,1%.

В полевом опыте растения поздней капусты 14 сентября опрыскивали ручным опрыскивателем ОРП суспензией биопрепаратов в концентрации 0,5%. Площадь каждой делянки—50 м², повторность четырехкратная, а расход рабочей жидкости 500 л/га. Схема расположения делянок—латинский прямоугольник. Температура воздуха во время проведения опыта в основном колебалась в пределах 12—14° (минимальная—5°, максимальная—22°), относительная влажность—85%. Учет гусениц белянок проводился на 10 модельных растениях капусты в каждой повторности. В начале опыта 58% гусениц достигли второго, 40—первого возраста.

В лабораторных условиях по испытанию биопрепаратов на разных штаммах против гусениц яблонной моли проводили два опыта. В каждом опыте—5 вариантов в пятикратной повторности. Гусениц яблонной моли помещали в изоляторы на ветви яблони, предварительно обработанные 0,5%-ной суспензией биопрепаратов. В контроле листья яблони обрабатывали водой. В первом опыте в каждом изоляторе—2 гнезда яблонной моли, а во втором—10 гусениц яблонной моли. Учет проводили на 5-й и 10-й

дии после закладки опыта. Полевой опыт был заложен 22 июня. Яблони опрыскивали суспензией биопрепаратов в концентрации 0,5%. Повторность опыта—четыре-кратная. В каждой повторности живых и погибших гусениц учитывали на 5 ветвях яблони на 10-й день после опрыскивания. Во время проведения опыта среднесуточная температура была 15,2°, относительная влажность воздуха—57—84%. Эталонном во всех опытах служил энтобактерин-3.

Результаты и обсуждение. Во всех лабораторных опытах самым эффективным оказался биопрепарат штамма 837, затем следовали штаммы 811 и 805 (табл. 1). Действие штамма 837 и энтобактерина на гусениц капустной белянки почти одинаковое. Эффективность биопрепаратов ниже в первом лабораторном опыте, где применялась 0,1% суспензия биопрепаратов и также в третьем опыте, где температура воздуха во время проведения опыта была 13°. В полевом опыте самым эффективным оказался штамм 805, затем следовали штаммы 811 и 837.

Таблица 1

Действие различных бактериальных препаратов на гусениц
капустной и репной белянок

Биопрепараты	Лабораторные опыты						Полевой опыт			
	капустная белянка						капустная белянка		репная белянка	
	повторности									
	1-ая		2-ая		3-ья					
	снижение численности гусениц, %									
	дни после закладки опытов						дни после опрыскивания			
	5	11	5	11	5	11	3	10	3	10
БИП-805	4	23	—	10	4	31	—	70,9	48,3	88,9
БИП-811	14	29	28	45	12	32	8,5	57,1	72,4	44,5
БИП-837	12	43	53	83	14	54	3,1	45,1	27,6	33,4
Энтобактерин-3	23	43	60	85	4	44	11,4	75,7	75,9	55,6

По эффективности действия биопрепаратов на гусениц яблонной моли существенного различия не выявлено. Применяемые препараты снизили численность вредителя на 87—100% (табл. 2).

Результаты испытания различных штаммов биопрепаратов показывают, что при температуре воздуха 13° и выше на гусениц белянок эффективнее действовал препарат БИП, изготовленный на штамме 837. При пониженной температуре в полевых условиях более эффективным оказался препарат из штамма 805. Техническая эффективность препаратов БИП, изготовленных на различных штаммах раз-

Действие различных бактериальных инсектицидных препаратов на
гусениц яблонной моли

Биопрепараты	Лабораторные опыты				Полевой опыт
	1-ая повторность		2-ая повторность		
	снижение численности гусениц, % к контролю на дни				
	5-й	10-й	5-й	10-й	10-й
БИП-805	44,2	95,4	80	100	87,4
БИП-811	57,9	92,5	98	100	98,2
БИП-837	56,6	92,7	96	100	98,4
Энтобактерин-3	63,9	94,6	88	100	98,8

новидности *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* против яблонной моли в лабораторных условиях была 93—100, в полевых условиях—87—99%.

Прибалтийский филиал Всесоюзного
института защиты растений

Поступило 20.X 1978 г.

BACILLUS THURINGIENSIS ԲԻՈԳԵՊԱՐԱՏՆԵՐԻ ԼԱՏՎԱՅՈՒՐ ՕԿՏԱԳՈՐԾՄԱՆ ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐԸ

Ռ. Յա. ՅԻՆԻՏԻՍ

Հաստատված է, որ *ԲԻՊ* պրեպարատները կարող են արդյունավետ օգտագործվել կաղամբի և շաղգամի ճերմակաթիթենների ու խնձորենու ցեցիդիայի պայքարելու համար:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Африкян Э. К. Энтомопатогенные бактерии и их значение. Ереван, 1973.
2. Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М., 1972.
3. Исакова Н. П., Моисеева Т. С. В сб. Биологические методы борьбы с вредителями сельского хозяйства. Ташкент, 1966.
4. Лескова А. Я. В сб. Совещание Всесоюзного энтомологического общества, 100, М.—Л., 1963.
5. Tanada Y. J. econ. Ent., 49, (3), 329, 1956.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 632.937

ИСПЫТАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ В БОРЬБЕ С НЕКОТОРЫМИ
 ЛИСТОГРЫЗУЩИМИ ГУСЕНИЦАМИ В САДУ

В. С. КОНДРЯ, М. Ф. ТРЕТЬЯКОВА, М. Д. ЛМПУЛЧУК, В. Л. СМЕЛЫЙ

В промышленных садах Молдавии, где ежегодно проводятся мероприятия по защите растений, листогрызущие гусеницы (непарный шелкопряд, яблонная моль, златогузка, американская белая бабочка и др.) встречаются единично. В молодых садах, где защитные мероприятия направлены в основном на борьбу с фитопатологическими объектами, эти вредители могут причинить значительный ущерб. Для их истребления нами проводились исследования с целью выяснения возможности использования биологических препаратов вместо применяемых пестицидов.

Материал и методика. Опыты с непарным шелкопрядом и яблонной молью проводились в Молдавском совхозе-техникуме виноградарства с. Кожушны Страшенского района Молдавской ССР. Для каждого варианта брали по три дерева яблони сорта Вагнер призовое 1969 г. посадки. Опыты с американской белой бабочкой проведены на территории института на деревьях клена, обработку которых проводили споровой суспензией соответствующего биопрепарата при помощи ранцевого опрыскивателя. Гусениц отсаживали под изоляторы. Каждый вариант включал в себя по 60 гусениц непарного шелкопряда, 45—американской белой бабочки и 3 гнезда яблонной моли. В варианте 3 повторности.

Из биопрепаратов применяли энтобактерин с прилипателем, БИП с прилипателем—титр 30 млрд. спор/г, битоксизиниллин (БТБ)—45 млрд. спор/г и дендрофос с титром 6 млрд. спор/г. Препаратом сравнения служил энтобактерин—сухой порошок—титр 30 млрд. спор/г. В качестве эталона использовали фозалон в 0,2%-ной концентрации. Контроль—без обработок. Титр испытанных партий во внимание не принимался, расчеты велись по препарату (согласно указаниям ВНИИбакпрепарат). Препараты испытывались в 0,2%-ной концентрации, что в пересчете на 1 гектар составляет 2 кг при расходе рабочей жидкости 1000 л/га. Учет эффективности проводили на 5-й, 7, 10, 15-й и 20-й дни. Процент гибели вредителя определяли по формуле Аббота.

Результаты и обсуждение. Непарный шелкопряд—*Ospesia dispar* L. При проведении опыта среднесуточная температура в день обработки составляла 16,6°. Однако в последующие дни она повысилась до 20,4° при максимальной 26,8°. Несмотря на хорошие условия погоды, отмирание гусениц по всем вариантам шло медленно и достигло на 5-й день более 27%. В варианте с применением фозалона гибель гусениц к этому сроку составляла 93,2% (табл. 1). Лучшие резуль-

таты получены при применении БИП и энтобактерина с прилипателем: гибель гусениц на 25-й день составила 94,0 и 92,4%, а по остальным вариантам—81,4—88,5%.

Таблица I

Применение биопрепаратов в концентрации 0,2% против гусениц непарного шелкопряда и яблонной моли (1978 г.)

Вариант	Непарный шелкопряд 4-го возраста				Яблонная моль
	погибло после обработки, % на день учета				
	5-й	7-й	10-й	25-й	10-й
Энтобактерин с прилипателем	27,2	35,2	44,5	92,4	75,3
БИП с прилипателем	5,2	13,6	18,5	94,0	69,7
Битоксибациллин	23,8	55,5	65,3	88,5	75,3
Дендрофос	5,2	22,0	37,0	86,9	93,7
Энтобактерин, сухой порошок	5,6	42,5	59,1	81,4	61,5
Фозалон	93,2	100,0			73,8
Контроль	8,3	9,8	9,8	9,8	13,3

Яблонная моль—*Hyponomeuta malinella* Z. В опытах с гусеницами яблонной моли четвертого возраста эффективность препаратов не очень высокая. Даже в эталоне (фозалон 0,2%) гибель гусениц на 10-й день составляла всего 73,8%. Исключение составил вариант с применением дендрофоса—гибель гусениц к этому сроку достигла 93,7% (табл. 1). В остальных вариантах гибель гусениц варьировала в пределах 60,7—75,3%. Такие неудовлетворительные результаты следует, по-видимому, отнести за счет неблагоприятных условий погоды. Май месяц был холодный. Среднесуточная температура воздуха за 10 дней составляла 13,6° с суммой осадков 22,8 мм.

Американская белая бабочка—*Hyphantria cunea* Drury. Погодные условия в период проведения опытов были благоприятные. Среднесуточная температура воздуха составляла 20,5°, осадков не было.

Результаты этого опыта, приведенные в табл. 2, показали, что гусеницы американской белой бабочки восприимчивы к бактериальным препаратам. Хотя отмирание гусениц шло не быстро, однако на 10-й день наблюдалась полная гибель вредителя.

В опыте с гусеницами американской белой бабочки второй генерации получены аналогичные данные. Исключение составил вариант с применением битоксибациллина—гибель гусениц на 10-й день составляла 79,3% (табл. 2).

На основании проведенных исследований можно заключить, что в условиях Молдавии бактериальные препараты высокоэффективны в борьбе с гусеницами американской белой бабочки и с успехом могут заменить ядохимикаты.

Применение биопрепаратов в концентрации 0,2% против гусениц АББ
четвертого возраста (1978 г.)

Вариант	I генерация			II генерация		
	погибло после обработки, % на день учета					
	5-й	7-й	10-й	5-й	7-й	10-й
Энтобактерин с прилипателем	68,2	94,9	100,0	75,8	89,9	93,3
БИП с прилипателем	31,2	85,3	100,0	58,6	79,3	100,0
Битоксибациллин	55,8	82,8	100,0	62,2	69,1	79,3
Дендрофос	26,8	100,0		96,4	100,0	
Энтобактерин-сухой порошок	58,3	80,4	100,0	85,3	96,4	100,0
Фозалон	45,0	73,0	100,0	75,8	89,6	96,4
Контроль	8,8	8,8	8,8	3,3	3,3	3,3

При применении энтобактерина с прилипателем в концентрации 0,2% гибель гусениц американской белой бабочки на 10-й день составляла 100—93,3, непарного шелкопряда—44,5 и яблонной моли—75,3%.

При использовании БИПа с прилипателем в той же концентрации гибель гусениц американской белой бабочки составляла 100, непарного шелкопряда 18,5 и яблонной моли 60,7%.

При применении битоксибациллина гибель гусениц американской белой бабочки составляла 100—79,3, непарного шелкопряда—65,3 и яблонной моли—75,3%.

Дендрофос вызывал уже на 7-й день 100%-ную смертность гусениц американской белой бабочки, на 10-й день гибель гусениц яблонной моли составляла 93,7, а непарного шелкопряда 37,0%.

Всесоюзный н-и институт

биологических методов защиты растений, Кншпнев

Поступило 12.X 1978 г.

ԲԻՈԲԻՈԼՈԳԱՐԱՏՆԵՐԻ ՕԳՏԱԳՈՐԾՈՒՄՆ ԱՅԳՈՒ ԲՐՈՇ ՏԵՐԵՎԱԿՐԾՈՂ ԹՐԹՈՒՐՆԵՐԻ ԴԵՄ

Վ. Ս. ԿՈՆԴՐՅԱ, Մ. Ֆ. ՏԵՏՅԱԿՈՎԱ, Մ. Դ. ԼՈՒՊՈՒԶՈՒԿ, Վ. Լ. ՍՄԵԼԻ

Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ ԲԻՊ պրեպարատը կարող է ապագործված օգտագործվել ամերիկյան սպիտակ թիթեռի և այլ թեփուկաթևավորների թրթուրների դեմ պայքարելու նպատակով:

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 612.11/616—007.45+616.12—049.843/001.6

РЕАКЦИЯ СИСТЕМЫ КРОВИ НА ГЕТЕРОТОПИЧЕСКУЮ
ПЕРЕСАДКУ ВТОРОГО СЕРДЦА
В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Н. Т. МІАНСАՐՅԱՆ, А. Г. ПІЛОՅԱՆ

Трансплантация органов и тканей в экспериментальных условиях дает возможность изучать широкий круг вопросов, касающихся различных сторон реакции организма реципиента, в том числе и ответную реакцию кроветворной системы. Проведенные нами ранее исследования показали, что трансплантация кожного лоскута беспородным лабораторным крысам и кроликам вызывает в лимфоидных органах макрофагальную, плазмоклеточную и ретикулолимфобластическую реакции, интенсивность которых колеблется в зависимости от сроков пересадки [7]. Эти данные соответствуют литературным сведениям о характере иммунорфологических сдвигов под влиянием чужеродного антигена [1—5]. Однако по некоторым данным [6], аналогичные сдвиги в лимфоидной ткани имеют место и в ранние сроки после воздействия раздражителей неантигенного характера, в частности переменного магнитного поля.

Целью настоящей работы было изучение влияния гетеротопической пересадки второго сердца на цитологический состав лимфоузлов, селезенки и картину периферической крови в зависимости от давности пересадки и антигенных различий донора и реципиента.

Материал и методика. Опыты поставлены на линейных крысах. В одной серии (45 экспериментов) проведена межлинейная пересадка второго сердца (доноры—крысы линии «Вистар», реципиенты—крысы линии «Август»), в другой серии (26 экспериментов)—внутрилинейная («Вистар»). Иммунодепрессивная терапия не проводилась. Полученные результаты сравнивали с соответствующими показателями интактных крыс. Сопоставление результатов двух серий экспериментов позволило выяснить, какие сдвиги обусловлены антигенными различиями и какие—операционным стрессом.

Применялась методика интраабдоминальной трансплантации сердца. Животные забивались в сроки от 2-го до 12-го дня после операции. Цитологическую картину лимфоидных органов изучали в препаратах-отпечатках срезов лимфоузлов и селезенки. В каждом препарате подсчитывали 500—1000 клеточных форм. В периферической крови определяли лейкоформулу на основании подсчета 100—200 форменных элементов.

Результаты и обсуждение. Внутрилинейная пересадка второго сердца уже на следующий день приводила к достоверному увеличению ко-

личества нейтрофилов в периферической крови (палочкоядерных—до $2,25 \pm 0,56$ и сегментоядерных—до $41,00 \pm 8,96\%$ при данных у интактных крыс линии «Вистар»— $0,88 \pm 0,15$ и $12,77 \pm 1,45\%$ соответственно, $P < 0,05$ и $P < 0,01$). Одновременно резко снижалось количество эозинофилов (с 3,15 до 0,25% в среднем по группе). В последующие дни наблюдались тенденция к нормализации картины периферической крови.

В лимфоузлах на вторые сутки отмечалась ретикулолимфобластическая реакция (количество ретикулярных клеток увеличивалось с $0,55 \pm 0,10$ до $1,35 \pm 0,38$, $P < 0,05$, а количество лимфобластов—с $3,10 \pm 0,24$ до $6,85 \pm 1,84\%$, $P < 0,05$) и незначительная макрофагальная и плазмоклеточная реакции, $P > 0,3$. В более поздние сроки число ретикулярных клеток и лимфобластов снижалось, однако не достигало их уровня у интактных крыс. Количество макрофагов и плазматических клеток к 3—4-м суткам несколько увеличивалось, но различие по сравнению с контролем оставалось недостоверным. Начиная с 5—6-го дня отмечалась нормализация их содержания.

Изменения в селезенке были аналогичными. Достоверно увеличивалось количество ретикулярных клеток (с $0,62 \pm 0,07$ до $2,20 \pm 0,56$, $P < 0,01$) и лимфобластов (с $2,60 \pm 0,30$ до $4,65 \pm 0,78\%$, $P < 0,02$) и незначительно—число макрофагов и плазматических клеток. Наблюдалось значительное оживление эритроидного ростка. Суммарное количество эритро- и нормобластов увеличивалось почти в три раза (с 1,92 до 5,50%). В более поздние сроки (до 4-го дня) интенсивность как ретикулолимфобластической, так и макрофагальной и плазмоклеточной реакций возрастала. Через неделю макрофагальная реакция снижалась до исходного уровня и значительно убывало количество лимфобластов, ретикулярных и плазматических клеток.

Межлинейная пересадка сопровождалась более выраженными изменениями в периферической крови и кроветворных лимфоидных органах. Кривая сдвига лейкоформулы имела два пика. Первый, более четкий пик, выявлялся на второй день (палочкоядерных нейтрофилов—до 4,0%, сегментоядерных—до 57,5% в среднем) и второй пик—на 5—6-е дни (палочкоядерных до 2,6% и сегментоядерных—до 37,0% при норме у здоровых крыс линии «Август»— $1,43 \pm 0,45$ и $20,23 \pm 4,84\%$ соответственно). Эозинофилы не выявлялись в первые дни и лишь к 8—9-м суткам количество их нормализовалось.

В лимфоузлах представляла интерес динамика макрофагальной реакции со значительным повышением на 2-й день (2,3% макрофагов при норме 0,44%), снижением на 4—5-й дни и повторным возрастанием на 6—7-й дни. Плазмоклеточная гиперплазия развивалась с 3-го дня и колебалась в пределах 2,5—3,0% в течение всего периода наблюдения (у интактных крыс количество плазматических клеток составляло в среднем 1,15%). Ретикулолимфобластическая реакция выявлялась также с 3-го дня и особенно резко повышалась к 7-му дню (количество ретикулярных клеток достигало $2,46 \pm 0,95$ при норме $0,36 \pm 0,09\%$, $P < 0,05$, а число лимфобластов— $14,10 \pm 1,85$ при норме $2,45 \pm 0,51\%$, $P < 0,001$).

Характер цитоморфологических сдвигов в селезенке носил аналогичный характер. Макрофагальная реакция также была двугорбой с пиком на 3—4 (4.0%) и 6-е (1.9%) сутки (при норме 0.31%). Выраженная плазматизация отмечалась к 4—5-му дням после пересадки ($2.56 \pm 0.81\%$, тогда как у контрольных животных количество их составляло $0.74 \pm 0.33\%$, $P < 0.05$). Значительная ретикулолимфобластическая реакция наблюдалась с 3-го дня. Если количество ретикулярных клеток в последующие дни колебалось, оставаясь существенно повышенным по сравнению с исходными данными, то лимфобластическая реакция во все сроки исследования сохранялась почти на одинаковом, статистически достоверно повышенном уровне (7.00 ± 0.77 — $8.30 \pm 3.13\%$ при норме 1.32 ± 0.42 , $P < 0.05$ и $P < 0.001$). С 4-го дня отмечалась и значительная активация эритропоэза, причем как количество эритро-, так и нормобластов более чем в пять раз превышало уровень их у интактных крыс линии «Август».

Как видно из приведенных данных, в периферической крови и лимфондных органах крыс-реципиентов наблюдаются значительные цитоморфологические сдвиги, отражающие реакцию системы крови на пересадку второго сердца и особенно резко выраженные при межлинейной пересадке. Сопоставление интенсивности отдельных клеточных реакций в иммунокомпетентной лимфондной ткани при внутри- и межлинейной трансплантации показало, что антигенные различия обуславливают прежде всего макрофагальную и плазмоклеточную реакции, тогда как ретикулолимфобластическая, по-видимому, связана также с оперативным вмешательством и функциональным состоянием пересаженного сердца. Расширение эритроидного кроветворения в селезенке, наблюдавшееся в обеих сериях экспериментов, зависит, вероятно, от интраоперационной кровопотери и некоторых гемодинамических сдвигов, обусловленных работой второго сердца.

Нейтрофильный лейкоцитоз с палочкоядерным сдвигом, относительная лимфоцитопения и анэозинофилия на второй день после операции обусловлены неспецифической реакцией кроветворной системы на пересадку и аналогичны сдвигам, наблюдавшимся при стрессовых ситуациях. Повторное повышение количества нейтрофилов при межлинейных пересадках и отсутствие его при внутрилинейных, коррелирующее с уровнем макрофагов в лимфондных органах, позволяет рассматривать это как реакцию системы крови на начинающееся отторжение чужеродного, антигенно различающегося второго сердца.

Филлал ВНИК и ЭХ МЗ СССР, Ереван

Поступило 23.XI 1979 г.

ՓՈՐՁԱՆԱՆ ՊԱՅՄԱՆԵՐՈՒՄ ԱՐՅԱՆ ՍԻՍՏԵՄԻ ՌԵԱԿՑԻԱՆ
2-րդ ՍՐՏԻ ՀԵՏԵՐՈՏՈՊԻԿ ՏՐԱՆՍՊԼԱՆՏԱՅԻՆՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿԻ

Ի. Տ. ԿՐԱՆՍՏՅԱՆ, Ա. Գ. ՓՈԼՅԱՆ

Անենտների լիմֆատիկ հանգուցների և փայծաղի ցիտոմորֆոլոգիական ուսումնասիրությունը 2-րդ օրվա հետերոտոպիկ տրանսպլանտացիայի ժամանակ ցույց է տվել, որ դոնորի և ռեցիպիենտի անաթոմիային տարբե-

ընթացումն արտացոլվում է առաջին հերթին մակրոֆագալ և պլազմաբջջային
սեղանիների ինտենսիվության վրա:

Ռեակտիվությունը ֆորմատիվ ռեակցիաների առաջացման ժամանակ որոշակի դեր է խաղում նաև վիրահատական ստրեսը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бадриева Э. А. В кн.: Ранние проявления тканевой несовместимости, М., 13, 1976.
2. Бережкова Р. В. В кн.: Вопр. трансплантации конечностей, Ярославль, 93, 1975.
3. Биленко М. В. В кн.: Особенности проявления тканевой несовместимости при трансплантации органов, М., 18, 1971.
4. Быкова Н. А. В кн.: Трансплантация органов и тканей. Горький, 291, 1970.
5. Горбатько Д. Л., Быкова Н. А., Петросян Ж. Л., Мосин Н. И., Баширов М. В. Тез. докл. II зональной межвузовской конф. по регенерации и трансплантации органов и тканей млекопитающих, Ереван, 20, 1973.
6. Васильев Н. В., Богинич Л. Ф., Шилева Г. Г. Арх. Патологии, 9, 47, 1971.
7. Миансарян Н. Т. Биолог. ж. Армении, 30, 3, 61, 1977.
8. Нерсисян Р. К., Карапетян А. Е. В кн.: Трансплантация органов и тканей, Горький, 257, 1970.
9. Abbot C. P., Lindsey E. S., Greech J. Q., De Witt D. W. Arch. Surg. 89, 645, 1964.
10. Ono K., Lindsey E. S. J. Thorac a Cardiovasc. Surg., 57, 2, 225, 1969.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ФАГОЛИЗИСА
У РАЗНОВИДНОСТЕЙ *BACILLUS THURINGIENSIS*Г. М. АКОПЯН, В. Г. ТУМАНЯН, Э. К. АФРИКЯН,
Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, Н. А. НАЗАРЕТЯН

Установлено, что в процессе непрерывных пассажей на жидких средах у культур различных разновидностей *Bac. thuringiensis* отмечается неодинаковая степень проявления фаголизиса. На материале 126 культур показано, что в процессе подобных пассажей частота фаголизиса на ранних стадиях роста наиболее выражена у штаммов серотипа *galleriae*, затем *sotto-dendrolinus*. Культуры разновидности *caucasicus* характеризуются высвобождением вирулентного фага в слабой степени. Фаголизис, являющийся результатом мутации умеренного фага в вирулентный, в процессе 20-суточных пассажей отмечается у 22% культур *caucasicus*, тогда как это явление обнаруживается у 84% изученных штаммов *galleriae*.

Изучен спектр литического действия лабораторных и производственных фагов *Bac. thuringiensis* на культуры его разновидностей. Установлено, что различные фаги, выделенные из культур одной разновидности, имеют неодинаковый спектр литического действия. Из одной и той же культуры выделены фаги с различным спектром литического действия, что указывает на ее полилизогенность. Культуры разновидности *caucasicus* являются сравнительно устойчивыми к действию фагов из штаммов других серотипов. Характерно отсутствие перекрестного фаголизиса культур *dendrolinus* и *caucasicus*.

Одним из важных условий предотвращения «спонтанного» фаголизиса при выращивании культур данного вида должно быть сокращение генерации клеток за счет использования массивных доз посевного материала, а также исключение не вызываемых необходимостью пересевов исходного штамма на питательные среды.

6 с., библиогр. 4 назв., табл. 4.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 22.XII 1978 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИЛ.

РЕФЕРАТ

УДК 576.85.5:632.931

ОТБОР ШТАММОВ *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS* ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БАКТЕРИАЛЬНОГО ИНСЕКТИЦИДНОГО ПРЕПАРАТА БИП

Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, А. Р. МАНУКЯН, А. А. БАБАЯН

Объектами изучения служили культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*. Из 41 исследованной культуры отобрано 32 штамма—типичных представителей этой разновидности, не образующих спонтанного фага при 20 последовательных пассажах.

Сравнительно активные по кристаллообразованию 19 штаммов исследованы в процессе ферментации. По размеру кристаллов с учетом степени кристаллообразования отобрано 9 штаммов, исследованных далее на продуктивность (по развитию в процессе ферментации и энтомоцидности).

Результаты показали, что все культуры обладали приблизительно одинаковой энтомоцидной активностью—в пределах 80—100%—по отношению к тест-объекту—непарному шелкопряду. Отличительным признаком культур оказалась скорость их споруляции через 20 ч развития в отмеченных условиях, на основании чего перспективными для производственных целей оказались штаммы 837, 841, 844, 879, 880, 914. Первые три культуры, а также штамм 831, как наиболее энтомоцидный по полученным данным, были рекомендованы для промышленного изготовления опытных партий препарата БИП. Однако производственные испытания показали неперспективность штамма 831.

Так, как штамм 831 отличается от испытывавшихся в производстве культур 837, 841 и 844 более поздним спорообразованием, есть основания учитывать важность быстроты споруляции для получения качественных ферментаций.

Штаммы 837, 841 и 844, оказавшиеся перспективными в условиях производства, были заново изолированы из трупиков гусениц тутового шелкопряда, в которых они хранились в течение 11—12 лет с целью обновления посевного материала. При исследовании продуктивности и энтомоцидности не обнаружилось заметных отличий этих культур от репродуцировавшихся на питательных средах. Наиболее энтомоцидные клоны были отобраны и рекомендованы для промышленного изготовления препарата БИП.

11 с., библиогр. 6 назв., табл. 2.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 21.XII 1978 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИИ.

РЕФЕРАТ

УДК 576.85.5:632.931

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТРАБОТАННОГО ИЛА ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Э. К. АФРИКЯН, В. А. УНАНЯН, П. Е. ТАТЕВОСЯН,
 Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, Э. Г. СИМОНЯНЦ

Изучены возможности выращивания культур *Bac. thuringiensis* на средах с отработанным илом в качестве единственного источника питания. Использовался ил Кироваканского завода химволокна, получаемый при биологической очистке оргстоков предприятия и сточных коммунальных вод. В работе применялись производственные штаммы серотипов *galleriae* (69-3, 69-6) и *caucasicus* (837), используемые для выработки инсектицидных препаратов, энтобактерина и БИП соответственно.

Результаты исследований показали, что отработанный ил в концентрации 2—3% по сухому весу может быть успешно использован в качестве единственного источника питания для выращивания испытанных культур *Bac. thuringiensis* и выработки из них инсектицидных препаратов. Титр клеток с последующим интенсивным споро- и кристаллообразованием достигает 2—3 млрд/мл, что аналогично данным, полученным при использовании питательных сред с кукурузным экстрактом и кормовыми дрожжами. Применение кислотных гидролизатов ила больших преимуществ не выявило.

Опыты показали, что замена в используемых регламентных средах для производства препаратов БИП энтобактерина и дендробациллина—источников органического азота на отработанный ил (по равному содержанию белка) оказывается вполне возможным как для получения высокого титра спор, так и обеспечения максимального образования кристалловидных токсинов.

Изучение инсектицидной активности к гусеницам тутового и непарного шелкопряда опытных партий БИП и энтобактерина, полученных на средах с илом, не выявило каких-либо различий в их вирулентности по сравнению с таковыми на регламентных и других средах.

На состав питательной среды с илом для выращивания *Bac. thuringiensis* и получения его инсектицидных препаратов получено авторское свидетельство (№ 529211 28.V.1976).

16 с., библиогр. 13 назв., табл. 6.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 21.XI 1979 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

РЕФЕРАТ

УДК 576.85.5:632.931

ИССЛЕДОВАНИЕ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS*
VAR. *CAUCASICUS* НА ОБРАЗОВАНИЕ ТЕРМОСТАБИЛЬНОГО
ТОКСИНА

Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, И. Б. СЕЙРАНЯН, В. А. ЧИЛИНГАРЯН,
К. О. ЧИЛИНГАРЯН

Исследовалась способность образовывать термостабильный экзотоксин 43-мя культурами *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*, новой разновидности бацилл, используемой для производства препарата БИП.

Результаты испытаний культур разновидности *caucasicus* на личинках комнатной мухи свидетельствуют об отсутствии продуцирования термостабильного токсина большинством изученных штаммов—38-ю из 43-х испытанных. Гибель от остальных культур незначительно превышала летальность гусениц в контроле и варьировала в вариантах опыта.

Испытанный параллельно штамм 647—активный продуцент экзотоксина (авт. свид. № 268796, 1970)—проявил очень высокую энтомоцидную активность, что свидетельствует об оптимальных условиях для образования экзотоксина и делает достаточно убедительным факт отсутствия его у опытных вариантов.

Производственные штаммы 805, 811, 837 были испытаны на тутовом шелкопряде. Подкормка гусениц автоклавированными супернатантами этих культур не оказала какого-либо отрицательного влияния в отличие от эталонных штаммов (735 и 647 серотипа I)—продуцентов термостабильного токсина, вызывающих почти полную гибель шелкопряда.

Те же препараты экзотоксина проверены в Институте защиты растений МСХ АрмССР на других вредителях, чувствительных к термостабильному токсину,—озимой совке и паутинному клещику. Результаты показывают, что гибель обоих вредителей в опытных вариантах не превышает таковую в контроле при почти полной летальности от эталонных препаратов.

Таким образом, испытанные культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* термостабильного токсина не образуют.

10 с., библиогр. 15 назв.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 22.XI 1979 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

РЕФЕРАТ

УДК 576.85.5:632.931

ИНСЕКТИЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ КУЛЬТУР *BACILLUS THURINGIENSIS* VAR. *CAUCASICUS* НА ГУСЕНИЦ БОЛЬШОЙ ВОЩИННОЙ МОЛИ

Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН, А. В. БАГДАСАРЯН

Изучено действие культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* (серо-типа 10) на гусениц большой вощинной моли (*Galleriae melonella* L.) Испытания споровой культуры проводились по методике определения биологической активности энтобактериина Института ВНИИбакпрепарат. Использовались культуры *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus* энтомогенного и неэнтомогенного происхождения, выделенные из различных районов нашей страны. Культуры были идентифицированы по комплексу морфофизиологических признаков и серотипированием по н-антигену.

Исследования показали, что гусеницы большой вощинной моли не чувствительны к 37 из испытанных 42 штаммов. Некоторые штаммы вызывали слабую гибель насекомого (в пределах 10—37%). Лишь один штамм 911, выделяющийся среди типичных представителей разновидности *caucasicus* настолько, что мог быть выделен в самостоятельную разновидность, отличался высокой энтомоцидностью (в пределах 88—100%).

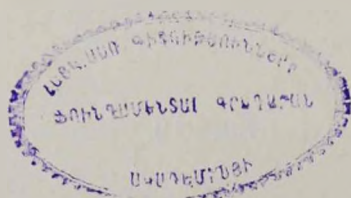
Таким образом, в целом большая вощинная моль не чувствительна к большинству культур *Bac. thuringiensis* var. *caucasicus*.

5 с., библиогр. 15 назв., 1 таблица.

Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 22.XI 1979 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИП.



В. А. ЧИЛИНГАРЯН, Л. А. ЧИЛ-АКОПЯН

СТАБИЛЬНОСТЬ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ БИП ПРИ ХРАНЕНИИ

Препараты БИП-811 и БИП-837, хранившиеся в условиях естественной смены температур неотапливаемого складского помещения в течение одного года, испытывались на эффективность к гусеницам капустной моли. Результаты испытаний показали высокую техническую эффективность препарата—в пределах 82—86%.

Препарат БИП-811 после 1,5-годового хранения в указанных выше условиях испытывался на гроздовой листовертке. Энтомоцидная активность оказалась равноценной энтобактерину, изготовленному в том же году.

Результаты исследований А. И. Машанова, А. Г. Шишкиной показали, что препараты из штаммов 805, 811, 837 хорошо переносят хранение при температуре $-45^{\circ} + 25^{\circ}$ в течение года (учитывая предыдущий год хранения в более мягких условиях—при комнатной температуре).

Те же сухие препараты, хранившиеся в условиях лаборатории, испытывались через 8 и 9 лет после изготовления. Одновременно испытывались жидкие препараты, хранившиеся в течение 0,5—1,5 лет в условиях лаборатории.

Испытание сухих препаратов показало значительное снижение титра спор при высокой энтомоцидности. ЛК₅₀ составляла по БИП 805—0,04, БИП 811—0,02, БИП 837—0,05, т. е. была ниже или равна ЛК₅₀ эталонного препарата (0,05).

При испытании жидких препаратов гибель гусениц тутового шелкопряда составляла 80—100% (от 0,1 до 1%-ной суспензии). Однако активность к непарному шелкопряду снижалась. Летальная концентрация намного превышала необходимый стандарт, что указывает на плохую сохраняемость жидких препаратов в течение одного года.

Полученные данные свидетельствуют о большой стойкости сухих препаратов БИП.

10 с., библиогр. 7 назв., таблиц 4.

Институт защиты растений МСХ АрмССР,
Институт микробиологии АН АрмССР

Поступило 22.I 1979 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНТИ.

