

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, амилитическую 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*.

Таблица 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 бактерии 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 бактерий. 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. ԶՈՒՐԱՅԵՎԱ, Ա. Ս. ՌԻԺԿՈՎԱ, Տ. Պ. ԴՈՒԲԻՆԻՆԱ

Սերոտիպական 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.