

МИКРОБИОЛОГИЯ

ДК 576.8.

Э. К. Африкян, Л. А. Чил-Акопян

**Новая разновидность спорообразующих бактерий-  
 продуцентов энтомоцидных токсинов**

(Представлено академиком АН Армянской ССР С. К. Карапетяном 21/V 1968)

В нашей и ряде других стран организовано промышленное производство препаратов бактериальных инсектицидов, успешно используемых для борьбы со многими видами вредоносных насекомых. Эти препараты готовятся из различных культур спорообразующих бактерий, объединяемых в группу *Bac. thuringiensis*.

Характерной особенностью указанных культур бактерий является образование особых энтомоцидных токсинов в виде параспоральных включений ромбовидной формы. В литературе описаны различные разновидности или серотипы культур *Bac. thuringiensis*, образующие подобные энтомоцидные токсины (1-3). Эти разновидности отличаются между собой рядом морфо-физиологических особенностей, антигенными свойствами, а также энтомоцидной активностью и вирулентностью по отношению к различным видам насекомых (4-5).

Изыскание высокоактивных культур новых разновидностей данной группы бактерий представляет большой практический интерес. Особое внимание уделяется получению фагоустойчивых штаммов, поскольку явление фагии наносит большой ущерб этой отрасли промышленности. Положение усугубляется тем, что у большинства штаммов бактерий, используемых на производстве инсектицидов, явление лизогении весьма распространено и приводит к довольно быстрому развитию вирулентных штаммов (6).

В результате анализа большого числа пораженных различными инсектицидами насекомых было выделено около 100 культур спорообразующих бактерий группы *Bac. thuringiensis*—продуцентов кристалловидных энтомоцидных токсинов.

В результате этих исследований нами был выделен ряд новых штаммов, которые отличаются от всех ранее известных и описанных в литературе разновидностей данной систематической группы бактерий достаточно четкими и характерными особенностями. В настоящей работе описывается как новая систематическая категория разновидность группы *Bac. thuringiensis*, именуемая нами как *Bac. thuringiensis var. caucasicus*.

Наиболее отличительной особенностью культур этой разновидности является специфическая сероагглютинация со жгутиковым (H) антигеном.

В табл. 1 приведены данные перекрестной агглютинации культур этой разновидности с сыворотками, полученными к жгутиковому антигену других культур, описанных в литературе. Сыворотки последние получены нами из Института Пастера в Париже; агглютинирующая сыворотка к культурам описываемой разновидности получена нами по методике Де Баржак и Бонефуа (7, 8).

Весьма отличительной особенностью культур новой разновидности бактерий является выделение лецитиназы (фосфолипазы C) и образование розового пигмента на среде с яичным желтком. Эта особенность приближает данную разновидность к культурам серотипа *alesti-anduze* группы *Bac. cereus*, описанным французскими авторами (9). Однако культур серотипа *alesti-anduze* подобная пигментация несравненно более интенсивно выражена.

Культуры описываемой нами разновидности характеризуются довольно выраженными антагонистическими свойствами, в особенности по отношению к штаммам других серотипов группы *Bac. thuringiensis*. На основании этого они могут быть дифференцированы как новая систематическая категория, исходя из принципа видовой специфики микробного антагонизма, осуществляемого посредством образования антибиотиков (10).

Изученные нами культуры описываемой разновидности имеют и ряд других характерных особенностей. Практически важно то, что большинство этих культур оказалось резистентным к действию испытанных нами лабораторных и производственных фагов, выделенных из разных штаммов группы *Bac. cereus-thuringiensis*.

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 по мере развития длинными цепочками. При микроскопии живых неокрашенных клеток содержимое их обычно гомогенное, с возрастом—грубо зернистое. При окраске суданом I 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 особого включения, сильно преломляющего свет. После завершения споруляции это включение выделяется в среду и обнаруживается в форме ромбовидных образований—кристаллов (рис. 1).

Величина спор у разных культур— $0,7—1,0 \times 1,2—1,6$  мк, ромбовидные параспоральные включения—в пределах  $0,6—1,0 \times 1,2—2$  мк. Культуры бактерий характеризуются более постоянными размерами спор, чем кри-



сталлов, размеры которых достаточно сильно варьируют у одного и того же штамма.

Хорошо развиваются на обычных лабораторных средах, содержащих белковые соединения, а также на растительных субстратах. На МПА образуют крупные, беловато-кремовые, плоские, зернистые колонии с сильно ризондными 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 Леффлера. Все штаммы характеризуются гемолитической активностью. Лецитиназу образуют, уреазы и инвертазы обычно не обнаруживаются. Нитраты восстанавливают, ацетилметилкарбинолы образуют, индол и сероводород не продуцируют.



Рис. 1. Электроннооптический снимок спор и кристаллов культуры 811 разновидности *Bac. thuringiensis var. caucasicus*.

Сбраживают глюкозу, фруктозу, мальтозу, глицерин, целлобиозу с образованием кислот без выделения газа. Большинство изученных штаммов салицил не усваивает. Ряд штаммов слабо усваивает арабинозу, галактозу, сахарозу. Не сбраживают рамнозу, ксилозу, лактозу, маннозу, рафинозу, инулин, сорбит, маннит. Усваивают цитраты и ряд других аммонийных солей органических кислот (молочная, бензойная, янтарная, фумаровая).

Все изученные культуры нуждаются для своего развития в присутствии в среде ряда аминокислот. Поэтому при их выращивании к средам добавляются дрожжевой экстракт (автолизат), казеиновый гидролизат и другие белковые субстраты.

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

Факультативные аэробы. Оптимум роста 35—37°C. Культуры, активно спорулирующие и образующие параспоральные включения—кристаллы, обладают выраженной энтомоцидной активностью (при скармливании) по отношению ко многим видам насекомых, главным образом к чешуекрылым. Токсичность к теплокровным не отмечена. Они лишены также фитотоксических свойств.

Культуры выделены из инфицированных насекомых, большинство — из погибших гусениц тутовского шелкопряда.

Рассматривается как новая разновидность бактерий группы *Bac. thuringiensis* с наименованием *Bac. thuringiensis var. caucasicus*.

Институт микробиологии Академии наук Армянской ССР

Է. Գ. ԱՅՐԻԿՅԱՆ, Լ. Ա. ՉԻԼ-ՀԱԿՈՔՅԱՆ

### Էնտոմոցիդ տոքսիններ արտադրող սպորավոր բակտերիաների նոր ենթատեսակ

Սպորավոր բակտերիաների յուրահատուկ տեսակներից ներկայումս արտադրվում են մի շարք բակտերիալ ինսեկտիցիդներ, որոնք լայն օգտագործվում են վնասատու միջատների դեմ պայքարելու համար:

Այդ նպատակով հիմնականում կիրառվում են *Bac. thuringiensis* խմբին պատկանող առանձին ենթատեսակները:

Ներկա աշխատության մեջ հեղինակները նկարագրում են բակտերիաների վերոհիշյալ խմբի մի նոր ենթատեսակ, որը անվանում են *Bac. thuringiensis var. caucasicus*.

Տրվում է այդ ենթատեսակին պատկանող կուլտուրաների մորֆո-ֆիզիոլոգիական և այլ հատկությունների բնութագրումը, սերոլոգիական և անտագոնիստական առանձնահատկությունները:

### Л И Т Е Р А Т У Р А — Գ Ր Ա Կ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

<sup>1</sup> В. И. Полтев, О. И. Швецова и Н. С. Федоринчик и др. Сб. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. М., 1963. <sup>2</sup> А. Б. Гукасян и др. Сб. Кристаллоносные микроорганизмы и перспективы их использования в лесном хозяйстве М., 1967. <sup>3</sup> А. М. Heimpel, J. Insect Pathol., 9 (3), 364 (1967). <sup>4</sup> E. Steinhaus, Insect Pathology, N. Y., (1963). <sup>5</sup> Э. К. Африкян, Изв. АН АрмССР (биол. н.), 16 (1), 23 (1963). <sup>6</sup> Н. М. Chapman a. G. Norris, J. appl. Bacteriol., 29 (3), 529, (1966). <sup>7</sup> H. de Barjac et A. Bonnefoi, Entomophaga, 7, 5, 1962. <sup>8</sup> H. de Barjac et A. Bonnefoi, C. R. Acad. Sc. (Paris), serie D, 264, 1811, 1967. <sup>9</sup> C. Toumauoff et C. Vago, C. R. Acad. Sc., 233 (23), 1954. <sup>10</sup> Н. А. Красильников, Усп. совр. биол., 31 (3), 346, 1951.