

Абдуллаев И.И., Садикова Х.Б., Атамуратова М.Ш.

ВЛИЯНИЕ КУЛЬТУРЫ *BACILLUS THURINGIENSIS* НА ТЕРМИТОВ РОДА *ANACANTHOTERMES*

I.I. Abdullaev, Kh.B. Sadikova, M.Sh. Atamuratova

INFLUENCE OF *BACILLUS THURINGIENSIS* CULTURE ON TERMITES IN THE GENUS *ANACANTHOTERMES*

УДК: 574.3:595.732.

В статье даны сведения о культуре, штаммах и биологической эффективности патогенных для термитов бактерий *Bacillus thuringiensis*.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, кристаллообразующие, биопроба, протоксин, термитоцид, гексафлумурон, хлорфлуазурон.

The article gives information on the culture, strains and biological efficacy of pathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* for termites.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, graining, bioprobe, protoxin, termitocid, hexaflumuron, chlorfluazuron.

На основе современных знаний можно полагать, что до вмешательства человека численность популяции любого вида насекомых зависела от равновесия между его способностью к размножению и сочетанием различных природных факторов, которые в большей или меньшей степени ограничивали его численность. К этим факторам, как уже упоминалось, относятся климат, погода, размеры ресурсов, доступных для использования, конкуренты, естественные враги и патогенные организмы. Главными патогенами или возбудителями болезней насекомых, в том числе и термитов, являются бактерии, грибы, простейшие, клещи, нематоды и др. [1; с. 20, 2; с. 34, 3; с. 86, 4; с. 170, 5; с. 12].

Природная среда рассматривается здесь как сумма всех внешних факторов, влияющих на взаимодействие между патогеном и хозяином. Кристаллообразующие энтомопатогенные бактерии группы *Bacillus thuringiensis*, выделенные в Узбекистане из насекомых вредителей разных видов, проявляют антитермитную активность в отношении *A.turkestanicus*. Сравнение величины термитоцидной активности культур различных штаммов *B. thuringiensis* дало возможность выявить высокопатогенные для термитов культуры. Такой подход является основой целенаправленного поиска культур *B. thuringiensis*, д-эндотоксин которых вызывает гибель представителей не только насекомых ряда отрядов: *Lepidoptera*, *Coleoptera*, *Diptera*, но и термитов *Isoptera*.

Ряд представителей рода *Bacillus*: *B. popillae*, *B. sphaericus* и *B. thuringiensis* в процессе споруляции образует кристаллические белковые включения, оказывающие специфическое инсектицидное действие на насекомых разных систематических групп и является основой экологически безопасных средств. Наиболее известны среди энтомопатогенных бацилл кристаллообразующие, относящиеся к группе *Bacillus thuringiensis*.

Известно, что параспоральные включения д-эндотоксина более 30 подвигов этой бактерии высоко специфичны по отношению к насекомым. Установлено, что наряду с кристаллами д-эндотоксина культуры продуцируют термостабильный в-экзотоксин и фосфолипазу (также оказывающую токсическое действие на насекомых [6; с. 57]. Отмечена определенная зависимость между формой параспоральных включений и их токсичностью для насекомых различных систематических групп [7; с. 59]. Кроме того, культуры *Bacillus thuringiensis* var. *niorrison*, *Bacillus thuringiensis* v. *israilensis*, *Bacillus thuringiensis* v. *kunshiensis* синтезируют цитолитические белки CytA и CytB, часто оказывающие синергетический эффект на д-эндотоксин Cry IV класса.

Изучение патогенности культур группы *Bacillus thuringiensis* для термитов, рассматриваемых видов показало, что из 152 культур *Bacillus thuringiensis* высокопатогенными для термитов было 16 штаммов, вызвавших 100% гибель особей рабочей касты *Anacanthotermes turkestanicus*.

Авторами определена восприимчивость туркестанского термита к бактериям группы *Bacillus thuringiensis* выделенных из насекомых разных видов, погибших в природе в местах их массового размножения.

Для постановки биопроб использовали термитов, собранных в термитниках, расположенных в природных условиях Хорезмской области и Республики Каракалпакстан.

В качестве питательного субстрата для термитов использовали фильтровальную бумагу Watman № 1. Заражение термитов рабочей касты производили культурами штаммов *Bacillus thuringiensis*, выделенные из насекомых - вредителей и их энтомофагов и термитов. Тестировали 52 культуры *Bacillus thuringiensis*, в числе которых 9 штаммов выделено из личинок *Bracon hebetor*; 15 штаммов из гусениц *Galleria melonella*; 11 из *Pieris brassicae*; 12 из рабочих особей *A. turkestanicus*; 4 из гусениц *Bombyx mori* и 1 из *Leptinotarsa decemlineata*.

Все использованные в опыте культуры *Bacillus thuringiensis* выращивали на питательном агаре (ПА) при 28°C в течение 96 часов до полного завершения процесса споруляции. Спорово-кристаллическую массу смывали 10 мл стерильной водой и использовали для постановки биопробы в лабораторных условиях.

Титр инокулюма составлял 5-10 спор и кристаллов/мл. Определение титра осуществляли

методом серийных разведений.

Постановка биопробы: в стерильные чашки Петри помещали диски из фильтровальной бумаги диаметром 85 мм, которые инокулировали 1 мл бактериальной суспензии. В чашки подсаживали по 10 рабочих особей туркестанского термита старших возрастов. Опыты ставили в 3-х кратной повторности для каждой культуры и трижды повторяли в разные сроки с наиболее патогенными штаммами.

Контролем служили термиты, получившие не инфицированную фильтровальную бумагу, смоченную 1 мл стерильной воды. Чашки с термитами инкубировали при 24°C.

Учет гибели термитов в опыте и контроле проводили ежедневно до полной гибели опытных и контрольных особей. Для каждого штамма подсчитывали общий процент гибели с учетом гибели в контроле.

Данные тестирования культур, выделенных из насекомых разных видов, показали значительные отличия их по признаку патогенности для термитов. Так, патогенность культур штаммов 4, 5 и 9, выделенных из личинок *Bracon hebetor*, значительно превышает этот показатель других изученных культур, патогенность которых определялась в те же сроки. Из 15 культур *Bacillus thuringiensis*, выделенных из гусениц *Galleria melonella*, наибольшую патогенность проявила культура 19 штамма. Среди 11 культур, выделенных из гусениц *Pieris brassicae*, наибольшей патогенностью обладала культура 25 штамма, вызвавшая гибель 90.0% особей термитов; патогенность культур 21, 27 и 29 штаммов колебалась в пределах 53.3; 56.6 и 60.0% соответственно. Другие культуры *Bacillus thuringiensis*, выделенные из этого насекомого, имели более низкую патогенность для термитов.

Тестирование 12 культур *Bacillus thuringiensis*, выделенных из рабочих особей термитов, позволило выявить только одну культуру 36 штамма, патогенность которой составила 93.3%. кроме того, из *A. turkestanicus* выделены культуры 48, 49 и 52 штаммов, патогенность которых составила 60.0; 50.0 и 53.3% соответственно; остальные 8 культур имели более низкую патогенность.

Три культуры *Bacillus thuringiensis*, выделенные из гусениц *Bombyx mori* L. и одна культура из *Leptinotarsa decemlineata* Say. были слабопатогенны для термитов. С целью получения дополнительных данных о стабильности культур *Bacillus thuringiensis*, с учетом различных сроков тестирования была проведена сравнительная оценка этого признака у культур, проявивших наибольшую патогенность при первичной оценке.

Проверка патогенности культур *Bacillus thuringiensis* в различные сроки тестирования показала стабильность этого признака у изученных штаммов, т.к. практически не выявлено значительных изменений в его величине. Известно, что некоторые культуры бактерий группы *B. thuringiensis*, наряду с образованием кристаллического д-

эндотоксина в процессе культивирования выделяют также термостабильный в-эзотоксин, фосфолипазу-С, г-эзотоксин, расширяющие возможность проявления патогенности культур для тест - насекомых. Известно, также, что гибель насекомых, имеющих рН - кишечного сока равный 9-12, происходит за счет растворения протоксина кристаллов и образования токсических веществ, вызывающих паралич центральной нервной системы у насекомых и их гибель.

Учитывая, что рН кишечного сока у термитов равен 5-5.5, такой механизм токсического действия только за счет перехода в щелочной среде протоксина *B. thuringiensis*, возможно, связан со способностью этих культур выделять антибиотические вещества [6; с. 57], подавляющие микроорганизмы в кишечнике термитов и участвующие в процессе их пищеварения. Это предложение требует, безусловно, специального исследования. Возможно также, что гибель вызывают другие токсины этой бактерии (в-эзотоксин, фосфолипаза С, г-эзотоксин).

Тем не менее, выявленная восприимчивость термитов к культурам ряда штаммов исследуемой культуры может увеличить потенциал биологического контроля термитов экологически безопасными инсектицидными препаратами, в основу которых будут заложены патогенные для термитов культуры бактерий группы *B. thuringiensis*.

Кроме того, выделение из рабочих особей *A. turkestanicus* патогенных для вредителя культур *B. thuringiensis* является основанием для вывода о том, что стимуляция эндемичных естественных патогенов является возможным направлением в разработке экологически безопасных методов борьбы с *A. turkestanicus*, т.к. особи, ослабленные присутствием в них *B. thuringiensis*, будут создавать условия для развития естественных эпизоотий. Для усиления действия на термитов культур *B. thuringiensis* можно добавлять в микробные инсектициды малые дозы химических термитоцидов [7; с. 59].

Исходя из изложенного, нами проводились исследования по определению эффективности культуры *B. thuringiensis*, в составе приманок против популяции рабочих *A. turkestanicus*, собранных из гнезд, расположенных в естественных и урбанизированных экосистемах Республики Каракалпакстан и Хорезмской области.

Разработанные нами опытные партии приманки состояли из измельченных стеблей подсолнечника с добавлениями в качестве биологического агента культур *B. thuringiensis* штаммов ЛМД и ЛМЕ-22 и, в качестве химических термитоцидов, гексафлумурона в 0.002% концентрации и 0.005% хлорфлуазурина.

Проводили испытания приманок в следующих вариантах:

- Кормовое растение + *Bacillus thuringiensis* шт. ЛМД
- Кормовое растение + *Bacillus thuringiensis* шт. ЛМЕ-22
- Кормовое растение +шт.ЛМД+ гексафлумурон

- 0.005%
- Кормовое растение + шт.ЛМД + хлорфлуазурон 0.005%
- Кормовое растение + шт. ЛМЕ-22+гексафлумурон 0.005%
- Кормовое растение + шт. ЛМЕ-22+хлорфлуазурон 0.005%
- Кормовое растение + гексафлумурон 0.005%
- Кормовое растение + хлорфлуазурон 0.005%
- Контроль: Кормовое растение + стерильная вода.

Культуры *Bacillus thuringiensis* добавляли в приманку в виде суспензии с титром 4.5 10 спор и кристаллов на мл в количестве 1 мл на 30 г кормового растения.

Образцы приманок помещали в стерильные чашки Петри, куда подсаживали по 10 особей *A. turkestanicus*. Опыты ставили в 5-х кратной повторности. Учет гибели насекомых вели в течение 24 суток. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Эффективность действия приманок с *Bacillus thuringiensis* на термитов *A. turkestanicus*

№ варианта	Средний %		Эффективность в %	
	погибших	живых	на 4 день	в день учета
1.	100.0	0	100.0	100.0
2.	96.7±1.1	3.3±0.8	96.1±1.3	100.0
3.	100.0	0	100.0	100.0
4.	80.5±1.5	19.5±1.1	81.0±0.9	100.0
5.	100.0	0	100.0	100.0
6.	96.7	3.3	96.0	100.0
7.	76.7	23.3	74.1	100.0
контроль	7.0	93.0	-	-

Проведенные данные показывают, что введенные в приманку суспензии культур *Bacillus thuringiensis* штаммов ЛМД и ЛМЕ-22 вызывают гибель опытных особей термитов на 100 и 96.1%, соответственно. В опытах совместно введенные в приманки культур *Bacillus thuringiensis* и химические препараты – гексафлумурона и хлорфлуазурона в 0.5% концентрациях гибель опытных особей термитов сохраняется на близком уровне 100 и 81.0%, соответственно.

Введение в приманки только химических термитоцидов дает несколько меньший эффект: 96.0 и 74.1%, соответственно. Отмечено, что введение в приманки бактерий группы *Bacillus thuringiensis* ускоряет гибель термитов *A. turkestanicus*.

Таким образом, кристаллообразующие энтомопатогенные бактерии группы *Bacillus thuringiensis*, выделенные в Узбекистане из насекомых разных видов, проявляют антитермитную активность в отношении *A. turkestanicus*. Сравнение величины термитоцидной активности культур различных штаммов *Bacillus thuringiensis* дало возможность выявить высококопатогенные для термитов культуры.

Литература:

1. Хамраев А.Ш. Термиты Центральной Азии: проблемы и пути их решения // Вестник ККО АН РУз. – Нукус, 2006. - №4. – С. 20 - 23.
2. Хамраев А.Ш., Хохлачева В.Е., Лебедева Н.И., Жугинисов Т.И., Бекберганаова З.О. Использование грибного препарата в системе биологического контроля численности термитов Узбекистана // Вестник ККО АН РУз. – Нукус, 2008. - №1. – С. 33 - 35.
3. Хамраев А.Ш., Кучкарова Л.С., Ганиева З.А., Хамраев К.А., Мирзаева Г.С. Участие термитов в глобальном круговороте углерода и азота // Докл. АН РУз. - Ташкент, 2011. - №3. - С. 85 - 88.
4. Хамраев А.Ш., Хасанов Б.А., Азимов Ж.А., Кучкарова Л. С., Иззатуллаев З.И., Шерназаров Э.Ш., Жаббаров А., Абдуллаев И.И. Биозарарлантириш асослари.- Тошкент: Фан ва технология, 2013. – 320 б.
5. Хамраев А.Ш., Азимов Д.А., Троицкая Е.Н., Жугинисов Т.И., Лебедева Н.И., Нуржанов А.А., Нарзуллаева М.Ф., Абдуллаев И.И., Хохлачева В.Е., Бекберганаова З.О. Термитларга қарши уйғунлашган кураш тизимига оид тавсиялар. – Тошкент, 2007. - 32 б.
6. Троицкая Е.Н., Хамраев А.Ш., Каримова Р., Кучбаев А.Э., Жугинисов Т.И. Лабораторное испытание приманок, содержащих культуры *Bacillus thuringiensis* на *Anacanthotermes turkestanicus* // Тезисы докладов Международного семинара «Термиты Центральной Азии: биология, экология и контроль». – Ташкент, 2005. - С. 57 – 58.
7. Троицкая Е.Н., Хамраев А.Ш., Ахмедова З.Ю., Литвинова Н.Ю. Энтомопатогенная активность штаммов *Bacillus thuringiensis* для термитов // Тезисы докладов Международного семинара «Термиты Центральной Азии: биология, экология и контроль». – Ташкент, 2005. - С. 59 – 60.

Рецензент: к.б.н. Бабаджанова С.