

УДК 579.64 : 632.937.1

**А. В. Крижко, канд. с-г. наук,
Л. М. Кузнєцова, канд. біол. наук, старш. наук. співроб.
Інститут сільського господарства Криму НААН**

**ЕНТОМОПАТОГЕННІ ШТАМИ *BACILLUS THURINGIENSIS*
ДЛЯ РОЗРОБКИ БІОІНСЕКТИЦИДІВ ПРОТИ
ЛИСТОГРИЗУЧИХ ШКІДНИКІВ**

Нині питання отримання нових перспективних біопрепаратів, ефективних проти колорадського жука, не втрачає актуальності. На ринку таких біопрепаратів домінують препарати на основі ентомопатогених бактерій *B. thuringiensis*. Промислові препарати ефективні проти понад 400 видів комах із родин *Lepidoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera*, *Coleoptera*, *Orthoptera* (Vadlamudi, 1995). Деякі такі мікробні препарати розроблено і в Україні (Пат. 85074¹¹ України, 2008).

Біопрепарати на основі *B. thuringiensis*, на відміну від хімічних інсектицидів специфічно діють на комах-шкідників, безпечні для ентомофагів і не є патогенними для ссавців і людини. Їх використання не спричиняє стійкого забруднення ґрунту, листя та повітря ентомопатогенними бактеріями. До того ж *B. thuringiensis* є природним компонентом біоценозів. Саме широким використанням *B. thuringiensis* у практиці контролю шкідників, їх селективною дією, безпечністю стосовно компонентів агроценозу та здоров'я людини зумовлена необхідність пошуку і вивчення нових штамів. Штами з високими ентомопатогенними та технологічними властивостями використовуються к для розробки біопрепаратів нового покоління та як аналоги штамів-продуцентів наявних. Перспективні штам *B. thuringiensis* становлять Колекцію корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту СГМ НААН України.

Метою досліджень було виділення нових штамів *B. thuringiensis*, оцінювання їх ентомопатогених властивостей порівняно з виробничими (еталон) та колекційними штамми, а також ідентифікація й вивчення технологічності штамів, перспективних для виробництва біопрепаратів.

Виділення нових штамів проводили за методикою Л. І. Бурцевої (2001). Ентомопатогенну дію штамів вивчали в лабораторних дослідах на личинках колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say, *Coleoptera*). Обробку корму (листя картоплі) проводили за методикою А. Я. Лєскової рідкою споровою

культурою штамів, яку отримували при культивуванні бактерій на технологічних качалках у колбах об'ємом 750 мл з 50 мл поживного середовища на основі кормових дріжджів та кукурудзяної муки (Лескова, 1984). Ефективність штамів обраховували за часткою загиблих личинок на 3, 5, 7 та 10 доби досліду. Для оцінювання ентомопатогенних властивостей виділених штамів як еталон використовували штам *B. thuringiensis* 98, продуцент біопрепарату бітоксубацилін, а також високоактивні штами *B. thuringiensis* з колекції лабораторії мікробіометоду ІСГК, які внесені до Колекції корисних ґрунтових мікроорганізмів Інституту СГМ НААН.

Під час визначення нових штамів, перспективних для розробки препаративних форм, як еталон використовували штам *B. thuringiensis* 994 — продуцент біопрепарату Акбітур. Оцінку технологічності перспективних штамів проводили за С. Д. Перту (1978).

Фізіолого-біохімічні властивості відібраних штамів вивчали за схемою ідентифікації А. Ваґґас, А. Bonnefoi та О. Lysenko (1963). Як еталонні використовували наявні типові колекційні штами *B. thuringiensis* 1, 3, 4, 8 та 10 серотипів.

У природних популяціях комах півдня України протягом 2006–2011 рр. було зібрано 146 хворих і загиблих особин із рядів лускокрилих (*Lepidoptera*), перепончатокрилих (*Hymenoptera*), твердокрилих (*Coleoptera*), сітчатокрилих (*Neuroptera*), прямокрилих (*Orthoptera*), двокрилих (*Diptera*) та інших. За результатами мікробіологічного аналізу зібраного матеріалу виділено 26 штамів кристалоутворювальних бактерій групи *thuringiensis*, у 18 з яких визначено здатність до продукування β -екзотоксину.

Встановлено, що високу ентомоцидну активність щодо личинок колорадського жука (*Leptinotarsa decemlineata*, *Coleoptera*) мають штами 0371, 0411 та 0486. Порівняно з еталонним штамом 98 найвищою ентомоцидна активність виявилась у штаму 0371 — на 5 добу загибель личинок колорадського жука сягала 100 %, що на 23,3 % вище, ніж у еталонного штаму. Також високоактивними виявилися штами 0411 та 0486, які за зазначений період спричиняли загибель личинок 94,7 і 93,3 % відповідно, що на 24,0 та 22,6 % більше, ніж за використання штаму 98.

Ми провели дослідження з визначення високоактивного й технологічного штаму *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, який може бути використаний у виробництві як аналог штаму 994 — продуценту біопрепарату Акбітур. Біопрепарат розроблено в лабораторії мікробіометоду Відділу мікробіології ІСГК НААН.

У дослідах з личинками колорадського жука 1–2 віків на фоні штаму 994 найбільш перспективним ентомопатогеном визнано штам 0371, під впливом якого вже через 3 доби частка загиблих комах перевищувала еталон на 14,6 %. Фактично повну загибель комах виявляли протягом 5 діб, тоді як у варіанті зі штамом 994 — протягом 10 діб.

Перевагу штаму 0371 як ентомопатогену доведена і в дослідах з личинками 3–4 віків. Повну (100 %) загибель шкідників відмічали протягом 5 діб, в той час як за цей період під впливом штаму 994 частка загиблих комах не перевищувала 65,3 %.

Незначною мірою за ефективністю щодо личинок штам 0486 поступався штам 0371. У варіантах використання останнього 100 % загибель комах зареєстровано протягом 6–7 діб. Отже, штам 0486 також може розглядатися як перспективний аналог виробничого штаму 994.

Встановлено, що досліджувані штами *B. thuringiensis* 0371 і 0486 за технологічними показниками культивування не поступаються виробничому штам 994, а за окремими показниками (час виявлення 10 % вільних спор, час 100 % виходу спор зі спорангіїв) і перевершують його. Крім того, у стаціонарній фазі розвитку бактерій титр КУО під час культивування штаму 0371 досягав $4,2\text{--}4,6 \times 10^8$, 0486 — $4,0\text{--}4,5 \times 10^8$ в 1 мл рідини, що в 1,2 та 1,1 раза перевищувало титр КУО штаму 994 ($3,6\text{--}4,0 \times 10^8$). Титр життєздатних спор рідких культур, одержаних у процесі культивування, сягав 2,5; 2,3 і 2,3 млрд спор в 1 мл рідини відповідно.

Таким чином виділені нові штами 0371 та 0486 за ентомопатогенними та технологічними властивостями можуть бути аналогами виробничого штаму 994.

За схемою ідентифікації штами 0371 та 0411 визначені як бактерії групи *B. thuringiensis* 1 серотипу (var. *thuringiensis*), а штам 0486 — бактерії групи *B. thuringiensis* 8 серотипу (var. *tenebrionis*). На відміну від штамів 1 серотипу, штам 0486 не утворює АМК і не засвоює манози.

Таким чином, враховуючи високі ентомопатогенні щодо шкідників ряду Coleoptera та технологічні властивості виділених штамів *B. thuringiensis*, вони можуть бути основою біопрепаратів для захисту сільськогосподарських і декоративних рослин від комах-листогризів.