

УДК 579.22.238.

М. С. Черенков¹, студ., **Н. А. Багаєва**¹, студ., **Л. О. Джуртубаєва**¹, канд. біол. наук, доц., **О. С. Багаєва**², канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
¹кафедра мікробіології та вірусології,
²кафедра медичних знань та безпеки життєдіяльності
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна.

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛАРВІЦИДНИХ БАКТЕРІЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* А-14

Вивчено основні біологічні властивості бактерій, що мають ларвіцидну активність і виділені з личинок кровосисних комарів. З'ясовано, що ці бактерії належать до виду *B. thuringiensis*, і показано, що вони в процесі споруючості утворюють кристали кубовидної форми. Останнім вони відрізняються від інших бактерій виду *B. thuringiensis*.

Ключові слова: бацили, ендотоксин, параспорульні включення.

Актуальною проблемою сучасної мікробіології є подальше вивчення морфологічних, культуральних і фізіолого-біохімічних властивостей *B. thuringiensis*. На сьогоднішній день каталогізовано 45 серотипів цього виду бактерій, в яких, в свою чергу, було визначено 58 сероварів [1].

Унікальна властивість спороутворюючих бактерій *B. thuringiensis* утворювати кристалічний білковий інсектицидний ендотоксин (δ -ендотоксин), безпечний для теплокровних і більшості холонокровних тварин, дає можливість використовувати їх для виробництва бактеріальних засобів боротьби з шкідливими комахами (бактокуліцид, інсектин, бітоксубацилін та ін.) [2].

На території колишнього СРСР було налагоджено виробництво бактокуліциду, продуцент якого надходив в Україну з російського Бердського заводу бактеріальних препаратів. Після розвалу СРСР Україна не закуповувала права на виробництво бактокуліциду і його виробництво припинилося.

Метою даної роботи було вивчення деяких біологічних властивостей (морфологічних, культуральних, фізіолого-біохімічних) бактерій роду *Bacillus* (штам Л-14), виділених із шлунку мертвих личинок кровосисних комарів роду *Culex*.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були: бактерії роду *Bacillus* – штам Л-14, виділений із шлунку мертвих личинок кровосисних комарів роду *Culex*, а також *B. thuringiensis* var. *israelensis* Н₁₄ ВНІСХМ 76 (№ 7-1/23 асб

№1354705) — діючий інгредієнт бактокуліциду, який був використаний для порівняння.

Для підтвердження належності досліджуваних бактерій до роду *Bacillus* здійснювали посів культур на МПА для одержання окремих колоній і опису їх морфології. Морфологію і розміри клітин, забарвлення за Грамом, рухливість, наявність спор і параспоральних кристалів вивчали з використанням мікроскопу БЮЛАМ Р-16 ($\times 1350$). Для фарбування спор і параспоральних кристалів використовували модифікований метод Пешкова [4]. Фізіолого-біохімічні властивості досліджуваних бактерій вивчали за загальновідомою методикою [3-6]. Ідентифікацію мікроорганізмів провадили за допомогою визначника Бергі [7].

Результати дослідження та їх аналіз

Досліджувані бактерії – прямі паличковидні клітини, рухливі, грампозитивні. Бактерії *B. thuringiensis* Л-14 - це палички з заокругленими кінцями розміром $0,8-1,0 \times 3-4$ мкм. В препаратах ці бактерії розташовувались як безладно, так і з утворенням характерних ланцюгів (рис. 1). У складі клітин виявлялися субтермінальні спори, які не впливали на розмір клітин. Спори мали еліптичну форму, розміри $0,8 - 1,2$ мкм, під час споруляції утворювалися кристалічні включення кубовидної форми — δ -ендотоксин розмірами $0,4 - 1,6$ мкм (рис. 2).

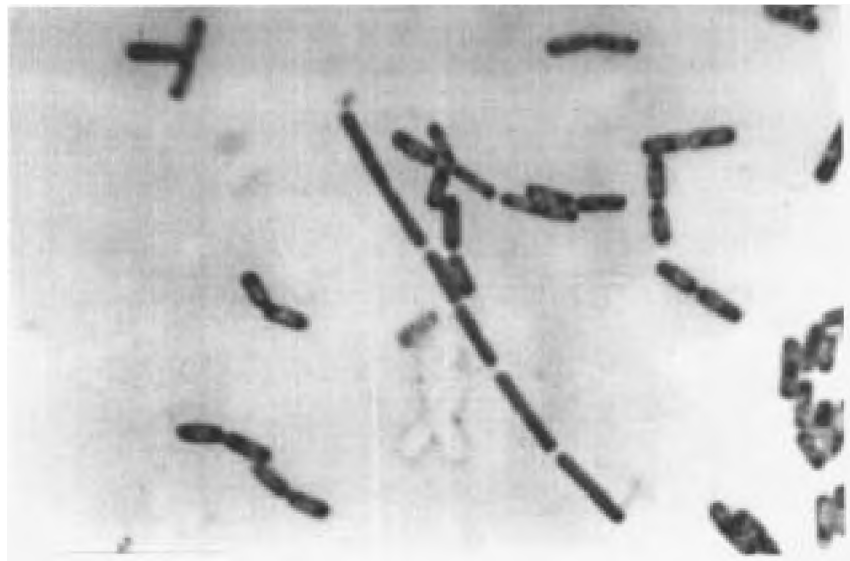


Рис. 1. Морфологія бактерій *B. thuringiensis* Л-14

Бактерії *B. thuringiensis* var. *israelensis* Н₁₄ ВНПСХМ 76 — це палички з заокругленими кінцями розміром $0,8-1,0 \times 3-4$ мкм. В препаратах вони розташовувалися безладно (рис. 3).



Рис. 2. Кубовидні параспоральні вclusions в клітинах *B. thuringiensis* JL-14

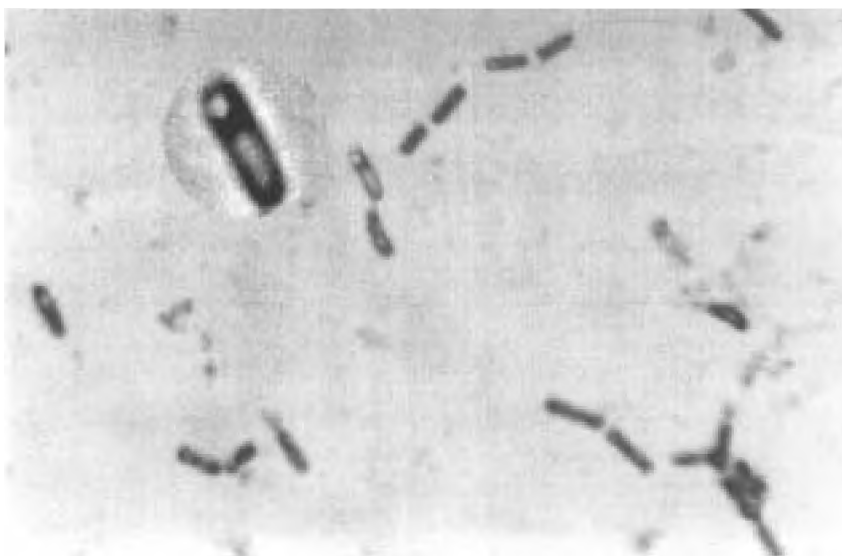


Рис. 3. Формування спори та параспорального включення у бактерії *B. thuringiensis* var. *israelensis* H₁₄ ВНІСХМ 76

Субтермінальні спори мали характерну еліптичну форму і розмір 0,8 – 1,1 мкм, форма кристалічних включень відрізнялась від включень штаму JL-14 тим, що кристали мали ромбовидну форму і розмір від 0,4 до 2 мкм (рис. 4). При фарбуванні препаратів модифікованим методом Пешкова клітини мали темно-червоне забарвлення, спори – зелене, а кристалічні включення – синє.

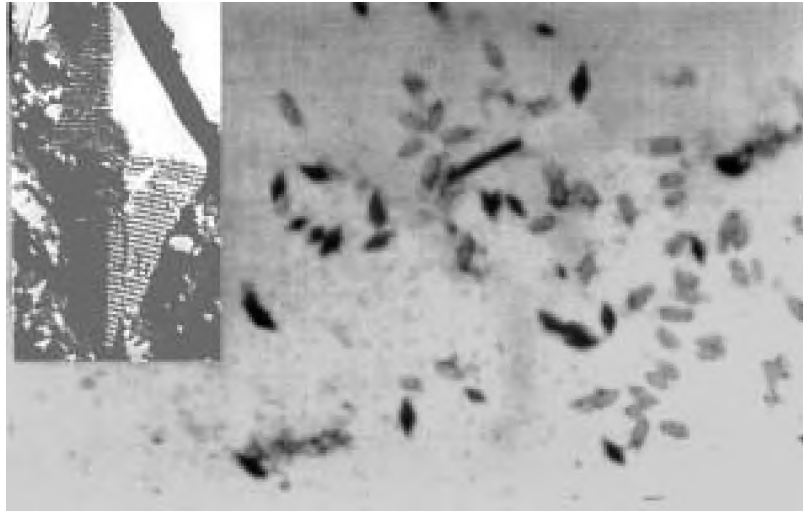


Рис. 4. Ромбовидні параспоральні включення в клітинах *B. thuringiensis* var. *israelensis* H₁₄ ВНПСХМ 76

Досліджувані бактерії мали культуральні властивості, характерні для представників роду *Bacillus*. Так, на МПА через 48 годин штам Л-14 утворював колонії матові, молочно-білі, з рівною поверхнею, округлі, з нерівними краями, $d = 2 - 5$ мм. Штам ВНПСХМ 76 утворював колонії матові, молочно-білі, округлі або неправильної форми з нерівними краями $d = 3 - 8$ мм.

При культивуванні бактерій у МПБ спостерігали дифузний ріст, плівку і помутніння середовища з наступним утворенням осаду.

Досліджувані бактерії – аероби або факультативні анаероби, що узгоджується з наявністю каталази. Температурний оптимум росту — 28°C.

Наші спостереження показали, що бактерії мали високу ферментативну активність і виявляли здатність до гідролізу желатину, крохмалю, казеїну, а також до використання пропіонату і цитрату натрію. Однак, до різноманітних вуглеводів вони виявили інертність, винятком була лише глюкоза. Досліджувані бактерії мали здатність до денітрифікації і утворення ацетону, а також до росту в МПБ з вмістом 7% NaCl (табл. 1).

Вивчення наведених вище біологічних властивостей дозволило віднести виділені бактерії (штам Л-14) до виду *B. thuringiensis*.

Виділені з шлунку личинок кровосисних комарів роду *Culex* бактерії *B. thuringiensis* Л-14 можуть бути використані за створення біопрепарату, ефективного для боротьби з шкідливими комахами.

Таблиця 1

Морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості досліджуваних бактерій

Досліджувана ознака	Штам	
	<i>Л-14</i>	<i>ВНІСХМ 76</i>
Розмір клітин	3-4×0.8-1.0	3-4×0.8-1.0
Розмір спор	0.8-1.2	0.8-1.1
Розмір кристалів токсину	0.4-1.6	0.4-2
Забарвлення за Грамом	«+»	«+»
Рухливість	+	+
Форма включень: ромбовидна	-	+
кубовидна	+	+*
Гідроліз: крохмалю	+	+
казеїну	+	+
желатину	+	+
Утворення каталази	+	+
Ріст при: 5°С	-	-
28°С	+	+
Ріст в МПБ з вмістом 7 % NaCl	+	+
8 % NaCl	-	-
Денітрифікація	+	+
Утворення кислоти з: глюкози	+	+
арабінози	-	-
сорбіту	-	+
маніту	-	-
сахарози	-	-
манози	-	-
лактози	-	-
інозиту	-	-
Використання: пропіонату Na	+	+
цитрату Na	+	+
Реакція Фогес-Проскауера	+	+

Примітка: * — кристали зустрічаються рідко
 «+» — наявність ознаки
 «-» — відсутність ознаки

Література

1. Патица В. П., Кузнецова Л. М. *Bacillus thuringiensis* як основа мікробіологічного методу захисту рослин від шкідливих комах // Микробиол. журн.— 1996.— Т. 58, № 1.— С. 82–88.
2. Игнатъев В. И., Карнов Э. Г., Меликсетян В. Ш. Изучение влияния препаратов *Bacillus thuringiensis* серотипа Н-14 на теплокровных животных // Микробиол. журн.— 1988.— Т. 50, № 6.— С. 73–77.
3. Резник С. Р., Слабоспицкая А. Т., Смирнов В. В. Некоторые биологические свойства бактерий рода *Bacillus*, выделенных из организма людей // Микробиол. журн.— 1985.— Т. 47, № 3.— С. 53–69.
4. Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорокулова И. Б. Методические рекомендации по выделению и идентификации бактерий рода *Bacillus* из организма человека и животных.— Киев, 1983.— 51 с.
5. Смирнов В. В., Резник С. Р., Василевская И. А. Споровые аэробные бактерии — продуценты биологически активных веществ.— Киев : Наук. думка, 1983.— 148 с.
6. Харвуд К. Бациллы. Генетика и биотехнология: — М.: Мир, 1992.— 531 с.
7. *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. — Baltimore-London: Williams and Wilkins Co., 1984.— 964 p.

М. С. Черенков¹, Н. А. Багаева¹, Л. А. Джуртубаева¹, О. С. Багаева²

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,

¹кафедра микробиологии и вирусологии,

²кафедра медицинских знаний и безопасности жизнедеятельности,

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛАРВИЦИДНЫХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* Л-14

Резюме

Изучены основные биологические свойства бактерий, выделенных из личинок кровососущих комаров и обладающих ларвицидной активностью. Выделенные бактерии в процессе споруляции образуют кристаллы кубической формы, что отличает их от других бактерий вида *B. thuringiensis*.

Ключевые слова: бациллы, эндотоксин, параспоральные включения.

M. S. Cherenkov, N. A. Bagaeva, L. A. Dzhurtubayeva, O. S. Bagaeva

Odessa National I. I. Mechnikov University,

Department of Microbiology and Virology,

Dvoranskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

BIOLOGICAL PROPERTIES OF THE LARVICIDIC BACTERIA *BACILLUS THURINGIENSIS*

Summary

Main biological properties of bacteria, extracted from the bloodsucking mosquitoes larvae possessing larvicidal activity were studied. The identification of the species *B. thuringiensis* was held. It was shown that extracted bacteria unlike other variants of the *B. thuringiensis* species form cubic crystals in the process of sporulation.

Key words: Bacillus, endotoxin, parasporales inclusions