

А. Б. Гукасян

Использование бактериального препарата инсектина против сибирского шелкопряда в лиственничных лесах

(Институт леса и древесины СО АН СССР)

Большой интерес к изучению энтомопатогенных микроорганизмов объясняется практической важностью и широкими перспективами использования микроорганизмов в борьбе с вредителями лесного и сельского хозяйства.

В уничтожении вредных насекомых применяются ядохимикаты. Многократные химические обработки лесов оказывают отрицательное влияние на лесные биоценозы. В связи с этим роль микробиологического метода борьбы непрерывно возрастает. Микробные препараты обладают селективным действием к определенным группам насекомых и долгие годы сохраняют свою вирулентность в лесном биоценозе.

Микроорганизмы способны вызвать массовую гибель насекомых в течение длительного времени, а в ряде случаев массовые эпизодии могут распространяться за пределы обработанных территорий. Эпидемии насекомых протекают динамично, этому способствуют переносчики микробов: ксилофаги, мухи, клопы, мертвоеды, муравьи и другие иммунные к микробным препаратам насекомые. Приготовление микробных препаратов значительно проще, чем массовое размножение паразитических насекомых или изготовление ядохимикатов.

Микробиологический метод борьбы против вредителей леса не претендовал и не претендует на монопольность. Он не исключает химического метода борьбы, если последний хорошо разработан, а требует в ряде случаев совместного применения (микробные препараты с сублетальными дозами инсектицида).

Бактериологический метод борьбы с вредителями леса,

имеющий ряд преимуществ перед химическим, получил широкое распространение в СССР, Чехословакии, Югославии, Польше, Австралии, США, Канаде, Франции, Швеции, Швейцарии и других странах. Известно, что эффективность микробиологического метода борьбы во многом зависит от ряда факторов (вирулентность микроба, концентрация микробных тел на единицу обработанной площади, окружающей температуры и влажности, восприимчивость насекомых и другие), которые часто не учитываются многими исследователями.

Микробиологический метод исключает **механический** подход к проведению практической работы и требует учета микробиологических, энтомологических и экологических факторов.

Работы отечественных ученых [1, 8, 12, 13 и др.] по изучению энтомопатогенных микроорганизмов расширились в последние годы в связи с бурным развитием микробиологии, биохимии и физиологии. Эти работы направлены на изыскание и применение в народном хозяйстве новых биологических активных микробов, метаболитов-антагонистов, ферментов, гормонов и других продуктов микробного происхождения.

Значение энтомопатогенных микроорганизмов в колебании численности массовых вредителей хвои и листвы деревьев были высказаны еще в работах И. И. Мечникова [10], В. П. Поспелова [11] и других.

Многолетними работами Е. В. Талалаева установлены губительные действия открытой им бациллы *Bac. dendrolimus* Tal. на гусениц и куколок сибирского шелкопряда. Выводы Талалаева были подтверждены многими отечественными исследователями.

Большой интерес представляют работы Н. А. Красильникова и А. Б. Гукасяна, открывшие новый возбудитель болезни сибирского шелкопряда и названного ими *Bac. tuviensis* Krass. et. Guk. Это спорообразующая бактерия, образующая кристаллические включения и эндотоксин. Под действием токсинов этих бактерий и их включений у гусениц парализуется кишечный тракт, соответственно изменяется величина РН кишечника и гемолимфы.

Следует также отметить, что аккумуляторами инфекции в зараженных участках могут быть не только гусеницы, но и другие лесные насекомые. В инфицированных лиственных лесах были выделены кристаллофорные бактерии из личинок многих чешуекрылых, усачей, короедов, клопов, мертвоедов и др. насекомых.

Установлено, что многие кристаллоносные микроорганизмы в природе могут снижать вирулентность [2]. Поэтому цель нашей работы заключалась в изыскании и выделении

биологически активных микробов-антагонистов с широким диапазоном действия на вредных насекомых, с расчетом длительного сохранения вирулентных свойств в природе.

Изучая микрофлору дубоволиственного шелкопряда *Gastropacha quercifolia* [2] по реке Арыг-Узу Шагонарского лесхоза Тувинской АССР, мы обнаружили гибель личинок в природе. Из собранных трупов нами были выделены 19 штаммов спороносных форм бактерий, образующих одинаковые кристаллические включения на бактериологических средах. Физиолого-биохимические анализы 19 штаммов и сравнение с известными и описанными в литературе кристаллоносными культурами показали, что все выделенные нами штаммы принадлежат к одной и той же группе. Все штаммы способны продуцировать кристаллы. Выделенные штаммы не проявляли антагонизма друг к другу и одновременно подавляли рост на МПА *Vac. tuiensis* и другие виды [2].

Первые опыты по проверке вирулентных свойств споровой культуры проводились в лабораторных условиях. Результаты испытания против сибирского шелкопряда показали, что возбудитель вызывает 99—100% гибели гусениц. Испытание кристаллоносных культур было продолжено на отдельных деревьях в лесу. Для этой цели подобрано 16 участков — 14 опытных и 2 контрольных. В каждом участке выбрано от 2 до 5 деревьев лиственницы. Результаты этих работ показали, что возбудитель в полевых условиях оказался столь же эффективным, как и в лабораторных опытах.

Мигрирующие в поисках пищи гусеницы старших возрастов, попадая в инфицированную зону, погибали спустя 5—6 дней (95—100%). Физико-биохимические особенности выделенных кристаллоносных штаммов позволили отнести их к энтомопатогенным микроорганизмам и описать как *Vacillus insectus* Guk. На основе указанной культуры разработан новый бактериальный препарат инсектин. Для широкого испытания инсектина бактериальный препарат был изготовлен на заводе бактериального препарата.

В 1963 г. опыты были поставлены против гусениц летнего колена. Работы проводили на площади 200 га. Плотность вредителя на одно дерево была 1500 штук. Степень объедания хвои в среднем 10—25%, местами — 45%.

Инфицирование очагов сибирского шелкопряда проводили с самолета ИЛ-14. Обработка очагов сибирского шелкопряда осуществлялась методом инфицирования с высоты 100—300 м над кронами деревьев. Сброс препарата с самолета ИЛ-14 проводился импульсным методом.

На 3, 5, 7, 10 и 15 день после инфицирования участков

проводили учеты гусениц по смертности. Результаты учетов показали, что гибель гусениц летнего колена составляла от 92% до 97%, в то время как в контроле гибель гусениц колебалась от 2 до 5%.

Бактериологические анализы показали, что кристаллоносная культура не только сохраняется на поверхности хвои 2—3 месяца, но и не теряет способность продуцировать параспоральные тельца, указывающие на вирулентность и токсикогенные свойства возбудителя.

Весной 1964 г. проводили бактериологический анализ хвои, коры, почвы и подстилки в участках, инфицированных в 1963 г. Во всех обследованных образцах найдены клетки возбудителя.

По заявке Института леса и древесины СО АН СССР Московский завод бактериальных препаратов изготовил концентрат энтомопатогенных культур *Vac. insectus*. Опытнo-промышленная проверка эффективности инсектина проводилась весной 1964 и 1965 гг. с самолета АН-2.

До начала авиа-бактериологических работ при детальном лесопатологическом обследовании было установлено, что плотность заселения шелкопряда в очагах достигала от 600 до 1300 штук на 1 дерево. Лабораторные бактериологические анализы вредителя указали на отсутствие инфекции, а вскрытие гусениц на отсутствие личинок паразитических мух и наездников. Это дало нам возможность считать, что подобранные участки вполне пригодны для проведения опытных работ.

Для учета эффективности авиабактериологического метода борьбы выбраны модели из числа деревьев с хорошо развитыми кронами. Учет гусениц проводили на расчищенной площадке под кронами моделей, а также с помощью контрольных ящичков.

Заправка самолета рабочим раствором препарата осуществлялась с помощью мотопомпы М-600, что позволяло повысить часовую и дневную производительность самолета.

На модельных деревьях при каждом учете подсчитывались гусеницы шелкопряда по следующим градациям: погибшие, больные, условно здоровые. Полный учет достигался подбором павших гусениц на очищенную площадку в проекции кроны, а также путем околоты и снятием кроны с отдельных деревьев на полог.

Результаты опытно-производительных работ показали, что гибель гусениц летнего колена на площади более 3000 га лиственничного леса составляла в среднем 92%. В то же время гибель гусениц в младших возрастах (1—2) достигала 100%. В контроле гибель гусениц не превышала 5%.

Трупы гусениц в летнем году долгое время сохраняются на деревьях и служат источником вторичного инфицирования и вызывают до 89% гибели здоровых особей (мигрировавших от неинфицированных зон).

При вскрытии погибших гусениц наблюдаются следующие изменения внутренних органов: зеленоватая гемолимфа превращается в черную тягучую жидкость с неприятным запахом. Внутренние органы растворяются полностью. При инфицировании гусениц перед окукливанием они гибнут в фазе куколки, не достигая имагинальной фазы.

Спустя месяц после инфицирования на тех же участках и тем же методом проводится учет погибших гусениц и живых куколок. Результаты учета куколок сибирского шелкопряда показали, что гусеницы, инфицированные перед окукливанием, погибли в фазе куколок почти полностью.

Для оценки эффективности бактериального препарата представляет интерес явления вторичного инфицирования гусениц (заражение здоровых гусениц от погибших). С этой целью поставлен следующий опыт, на незараженное дерево лиственницы были выпущены здоровые гусеницы, затем к ним подсажены трупы гусениц, погибших от энтомопатогенной культуры. Выяснилось, что гибель гусениц от вторичного инфицирования наступает на 8-й день и оставляет 70—85%.

При опытно-производственных работах важно установить продолжительность сохранения вирулентности свойства возбудителя на хвое лиственницы.

Исследования показали, что активность препарата сохраняется на поверхности хвои в течение вегетационного сезона. Проводились также работы по определению степени чувствительности гусениц 1 и 2 возрастов к бактериальной культуре. Опыты были поставлены в полевых условиях. Для этой цели в садочках были взяты гусеницы младших возрастов. Инфицирование гусениц проводили через корм, путем непосредственного контакта и через дыхальца.

Лабораторные опыты позволили выявить, что пероральный путь — не единственный способ, при котором могут заразиться гусеницы вредителя. Возбудитель также проникает через дыхальца в тело гусеницы. Гибель гусениц младших возрастов от возбудителя почти такая же, что и гусениц старшего возраста (98—100%).

Для диагностики состояния насекомых представляет интерес проследить симптомы заболеваний, вызванных кристаллоносными бактериями. Установлено, что начальный этап болезни характеризуется глубоким распадом форменных элементов. Гемоцитарный состав резко нарушается. За короткий

срок (1—2 дня) усиливается лизис жировых клеток, гемоцитов, и весь организм наводняется бациллой возбудителя. Одновременно повышается вязкость гемолимфы, рН сдвигается до 9,6 и увеличивается каталозное число. На 2—3 сутки после инфицирования наступает лизис ядра клеток. Уменьшается дисперсность биокolloидов. Цитоплазма вакуолизируется. Резко активизируются протеолитические и дыхательные ферменты, происходит глубокое нарушение фосфорного обмена. Ведущее положение занимает аммиачное отравление. В организме подавляется биохимическая защита нейтрализации и обезвреживания ядовитых продуктов. В конечном счете ткани гистолоизируются и растворяются.

Лабораторные анализы показали, что энтомопатогенные кристаллоносные микроорганизмы довольно широко распространены в лиственных лесах. Кристаллофлоры выделены из пищеварительного тракта у многих хвоегрызущих и стволовых вредителей [3, 4, 5, 7].

Многие штаммы кристаллоносных микроорганизмов обладали широкой естественной изменчивостью. В результате диссоциации некоторые штаммы изменяют вирулентность в отношении гусениц и куколок вредителя. Для повышения активности слабовирулентных культур сотрудниками лаборатории широко используются физические и химические методы воздействия.

Рентгено- и гаммаоблучением А. И. Машановым [9] были получены устойчивые к диссоциации мутанты, обладающие высокой вирулентностью по сравнению с исходными.

Бактериальный препарат также испытан против других вредителей. Результаты полевых опытов показали, что энтомопатогенная культура имеет широкий диапазон действия. Он поражает не только гусениц и куколок сибирского шелкопряда, но и черно-желтой ванессы. Гибель указанных насекомых достигает в полевых условиях от 90—98% [6].

Приведенные материалы позволяют сделать следующие выводы:

- 1) Энтомопатогенная культура *Bacillus insectus* и созданный на ее основе препарат инсектин вызывают (90—98%) гибель сибирского шелкопряда при первичном инфицировании в фазе гусеницы и куколки, что обеспечивает снижение численности вредителя до хозяйственно-допустимых величин.

2. Возбудитель болезни долгое время сохраняется в условиях леса (в подстилке, в почве, на кроне, на хвое), не снижая вирулентных и патогенных свойств.

3. Болезнь протекает в острой и хронической форме патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Африкян Э. Г. Энтомопатогенные свойства бактерий и их практическое значение. Изд. АН Арм. ССР, (биологические науки), т. 16, 1963, № 1.
2. Гукасян А. Б. Новый энтомопатогенный микроб *Bac. insectus*. Авторское свидетельство В 805, 1963.
3. Гукасян А. Б. Видовой состав микрофлоры сибирского шелкопряда. В сб. «Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства». Изд. «Наука», М., 1966.
4. Иванов Г. М., Гукасян А. Б. Окраска кристаллов, спор и вегетативных клеток энтомопатогенных кристаллообразующих спороносных бактерий. «Микробиология», т. 35, вып. I, 1966.
5. Исаев А. С., Гукасян А. Б., Тарасова Д. А. Особенности микрофлоры стволовых вредителей лиственницы сибирской. В сб. «Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства». Изд. «Наука», М., 1966.
6. Кондаков Ю. П., Гукасян А. Б. и Годз В. Перспективы применения бактериологических препаратов в борьбе с черно-желтой ванессой. Исслед. по биологическому методу борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства. Новосибирск, 1965.
7. Константинопольская Н. И. К вопросу о сохранении энтомопатогенных бактерий в лесных почвах Тувинской АССР. В сб. «Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства». Изд. «Наука», М., 1966.
8. Красильников Н. А., Гукасян А. Б. *Bacillus tuviensis*. Новый возбудитель болезни сибирского шелкопряда. Микробиология, т. 33, вып. 4, 1964.
9. Машанов А. И. Отношение к рентгено- и гаммаоблучению высоко-вирулентной энтомопатогенной бактерии *Bac. insectus*. В сб. «Микроорганизмы в борьбе с вредителями лесного хозяйства». Изд. «Наука», М., 1966.
10. Мечников И. И. О болезнях личинок хлебного жука. Записки импер. о-ва сельского хозяйства Южной России, 1, 21; 1879.
11. Поспелов В. П. Результаты применения грибных, бактериальных и вирусных возбудителей болезней насекомых в борьбе с вредителями с.-х. В кн. «Итоги научно-исследовательских работ ВИЗР за 1939». Всесоюз. ин-т защиты растений. М.-Л., 1940.
12. Талалаев Е. В. К вопросу о разработке микробиологического метода борьбы с сибирским шелкопрядом. Тезисы докл. на Пленуме ВАСХНИЛ по вопросу инф. и инвоз. болезней насекомых, 1954.
13. Талалаев Е. В. Септицемия гусениц сибирского шелкопряда. Микробиология, т. 25, вып. 1, 1956.