



(19) KG (11) 329 (13) C1

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ПРИ ПРАВИТЕЛЬСТВЕ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ (КЫРГЫЗПАТЕНТ)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ к предварительному патенту Кыргызской Республики

(21) 970152.1

(22) 03.10.97

(46) 01.10.1999, Бюл. №3, 1999

(75) Доолотельдиева Т., Масаидов Б.Ж. (KG)

(73) Доолотельдиева Т. (KG)

(56) Кандыбин Н.В. Новый энтомопатогенный препарат "Битоксибациллин".

Бактериальные средства и методы борьбы с насекомыми и грызунами. Автореф. докт. дис. - Л., 1972

(54) Штамм бактерий Bacillus thuringiensis 57-ТП продуцент энтомопатогенного препарата против жесткокрылых вредителей

(57) Штамм бактерий Bacillus thuringiensis 57-ТП продуцент энтомопатогенного препарата против жесткокрылых вредителей. Изобретение относится к микробиологической промышленности и может быть использовано в производстве препаратов для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур и представляет собой новый штамм кристаллообразующих бактерий. Задачей изобретения является получение нового штамма, обладающего энтомацидной активностью. Штамм получен в 1996 году путем выделения бактерий из почвы Ляйлякского района Ошской области. 2 табл.

Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, может быть использовано в производстве препаратов для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур и представляет собой новый штамм кристаллообразующих бактерий.

Известен штамм B.T. Var. israelensis - продуцент биопрепарата бактоциулицид (В.А. Бурлак. Влияние кристаллообразующих бактерий B.T. var. israelensis на инверсионно-полиформия популяции малярийного комара. - Автореферат канд. дис. Новосибирск, 1996 г. - 16 с.).

Недостатком этого штамма является то, что он вызывает гибель только у кровососущих двукрылых, в частности комаров, не проявляет патогенность в отношении жесткокрылых вредителей.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому положительному эффекту является штамм B.T. var. thuringiensis – продуцент промышленного препарата - битоксибациллина (Н.В. Кандыбин. Новый энтомопатогенный препарат

"Битоксибациллин". Бактериальные средства и методы борьбы с насекомыми и грызунами. Автореферат, докт. дис. -Ленинград, 1972 г.).

Недостатком штамма *B.T. var. thuringiensis* является то, что его спектр патогенности в отношении жесткокрылых вредителей ограничивается только колорадским жуком.

При создании изобретения ставилась задача получения продуцента энтомопатогенного препарата, предназначенного против вредителей растений из отряда жесткокрылых.

Задача решается получением нового штамма *Bac. thuringiensis* 57-ТП, который был выделен из почвы естественных высокогорных ландшафтов Ошской области.

Номенклатурные данные: Род: *Bacillus*, Колин, год регистрации 1872. Вид: *Bac. Thuringiensis*.

Штамм *Bac. thuringiensis* 57-ТП характеризуется следующими культурально-морфологическими и физиологико-биохимическими признаками.

Культурально-морфологические признаки

Вегетативные клетки представляют собой грамположительные, подвижные, одиночные или в цепочках спорообразующие палочки размером (2.6-5.0) x (0.7-1.0) мкм, перитрихи. Споры овальные, размером (1.0-1.6) x (0.6-1.1), спорангии не расширяют. Споры расположены центрально. При споруляции образуются параспоральные включения различной формы - овальные, круглые, кубические, неправильные четырехгранные. Преобладают кристаллы овально-круглых форм.

Хорошо растет на мясо-пептонном агаре (МПА), рыбном агаре (РА) и других питательных средах с добавлением пептона и дрожжевого или кукурузного экстракта.

На РА образует пигмент коричневого цвета. Колонии плоские с неровными лопастными краями пастообразной консистенции. На желтой среде, ломтиках картофеля и среде с добавлением БВК пигмент не образует. Оптимальная температура роста 28-30 °С.

Физиологико-биохимические признаки

Штамм продуцирует каталазу, гидролизует крахмал, казеин, разжижает желатин. Образует ацетилметилкарбинол, лецитиназу, уреазу. Не разлагает эскулин и салицин. Не образует кислоты и газы из мальтозы, лактозы и сахарозы. Усваивает глюкозу, маннозу с образованием кислоты без газа. Сероводород и индол не образует.

Отношение к источникам азота

Использует аммонийные и нитратные формы азота. Нитраты восстанавливают. Усваивает азотные соединения, входящие в состав кукурузного экстракта, мясной воды и пептона.

Условия хранения - в виде леофильно высущенной культуры в запаянных ампулах.

По физиологическим свойствам отличается от *Bac. thuringiensis* var. *thuringiensis* (Н-І) тем, что не усваивает эскулин, не образует кислоты из сахарозы. Пигмент образует. По инсектицидной активности отличается тем, что штамм действует не только на личинки колорадского жука, но и на другие виды жесткокрылых, в том числе на личинки тополевого и ивового листоедов.

Изобретение поясняется следующим конкретным примером использования штамма *Bac. thuringiensis* 57-ТП.

Пример.

Посевной материал получают выращиванием штамма в матрицах на твердой питательной среде следующего состава, %: пептон - 1.0; кукурузный экстракт - 0.5; отруби - 1.0; NaCl - 0.5; agar - 2-2.5; pH среды - 7-7.2; температура -28°C.

Полученный посевной материал в количестве 1.0 % от объема среды в ферментере

засевают в аппарат объемом 120-200 л и выращивают в среде следующего состава: кукурузный экстракт - 1.5; отруби - 1.0; глюкоза - 0.5; pH - 7.2. Глюкозу стерилизуют текущим паром и добавляют в ферментер отдельно после охлаждения среды. Ферментацию осуществляют при 28 - 30°C и аэрации 1.5 л воздуха на 1 л культуральной жидкости в 1 мин, в течение 50-56 ч. После окончания ферментации биомассу подвергают высушиванию в вакуумных сушилках при 50°C в течение 24 ч, разбавляя ее инертным наполнителем, чтобы получить концентрацию приблизительно 60-100 млрд. спор и кристаллов в 1 г сухого порошка.

Патогенность штамма изучалась на II стадии личинок колорадского жука. На свежий лист картофеля наносили бактериальную суспензию в дозе $2\text{-}3 \cdot 10^8$ спор/мл и после подсушивания на воздухе ими скармливали личинок колорадского жука. Учет гибели после заражения проводили в течение семи суток (табл. 1).

Для определения инсектицидной активности штамма в отношении тополевого листоеда, свежий лист тополя обрабатывали бактериальной суспензией в дозе $2\text{-}3 \cdot 10^9$ спор/мл и после подсушивания листья давали в виде корма личинкам II стадии. Наблюдение за подопытными насекомыми проводили в течение 10 суток (табл. 2).

Таблица 1

Результаты испытания штамма 57-ТП на II стадии личинок колорадского жука

Варианты опыта	Кол-во насеком. в опыте	Дни гибели (сутки)							Процент гибели по Абботу
		1	2	3	4	5	6	7	
I	25	-	5	4	5	4	3	3	95.8
II	25	-	4	4	6	4	3	2	91.6
III	25	-	3	5	5	3	4	2	87.5
Контроль (вода)	25	-	-	-	1	-	-	-	-

Таблица 2

Результаты испытания штамма 57-ТП на II стадии личинок тополевого листоеда

Варианты опыта	Кол-во насеком. в опыте	Дни гибели (сутки)						Процент гибели по Абботу
		4	6	7	8	9	15	
I	15	1	2	2	2	1	5	86.0
II	15	2	-	3	4	2	1	80.0
III	15	2	1	2	1	3	2	80.0
Контроль (вода)	15	-	-	-	-	-	-	-

Формула изобретения

Штамм бактерий *Bacillus thuringiensis* 57-ТП продуцент энтомопатогенного препарата против жесткокрылых вредителей.

Составитель описания Кожомкулова Г.А.
Ответственный за выпуск Арипов С.К.

Кыргызпатент, 720021, г. Бишкек, ул. Московская, 62, тел.: (312) 68 08 19, 68 16 41, факс: (312) 68 17 03