

РАСПРОСТРАНЕНИЕ КРИСТАЛЛОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* В ПОЧВАХ ОРЕХОВО-ПЛОДОВЫХ ЛЕСОВ КЫРГЫЗСТАНА

*Исследования показали, что кристаллообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* широко распространены в почвах орехово-плодовых лесов. Наибольшая встречаемость *B.thuringiensis* отмечена в лесных черно-коричневых почвах. Из этих почв изолировано девять серологических вариантов *Bacillus thuringiensis*: H1, H2, H3abc, H4ab, H5ab, H8ab, H14, H17, H31. Среди идентифицированных кристаллообразующих бактерий общими для всех обследованных типов почв были подвиды H5ab, H14, H31, H3abc.*

Ключевые слова: кристаллообразующие бактерии, почва, орехово-плодовые леса, лесные черно-коричневые почвы, микроорганизм.

DISTRIBUTION OF CRYSTAL-FORMING BACTERIA *BACILLUS THURINGIENSIS* IN SOILS OF WALNUT-FRUIT FORESTS OF KYRGYZSTAN

*Studies have shown that the crystal-forming bacteria *Bacillus thuringiensis* are widespread in soils of walnut-fruit forests. The highest occurrence of *B.thuringiensis* is found in forest black-brown soils. Of these soils, nine serological variants of *Bacillus thuringiensis* are isolated: H1, H2, H3abc, H4ab, H5ab, H8ab, H14, H17, H31. Among the identified crystal-forming bacteria, subspecies H5ab, H14, H31, H3abc were common to all the surveyed soil types.*

Key words: crystal-forming bacteria, soil, walnut-fruit forests, forest black-brown soils, microorganism.

Кристаллообразующие бактерии группы *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) широко распространены в природе: эти бактерии выделяются из насекомых [Талалаев, 1956; Иванов, Гукасян, 1966; Кандыбин и др, 1972; Швецова, Зурабова, 1969; Toumanoff, Vago, 1953], из почвы [de Lucca et al., 1979; Padua et al., 1981, Martin, Travers, 1989; Ходырев, 1990, Chilcott, Wigley, 1993; Chak et al., 1994; Aptosoglou et al., 1997 Половинко, 1997], с листьев растений [Smith, Couche, 1991], из сухих пищевых продуктов и мест их хранения [Kaelin et al., 1994] от Антарктиды до Антарктики.

По встречаемости *Bacillus thuringiensis* в почве было проведено много работ как на региональном уровне, так и по всему миру, существует несколько предположений об экологической нише *Bt*. Тот факт, что эти бактерии редко вызывают природные эпизоотии в насекомых, привел ряд авторов к заключению, что это почвенный микроорганизм, которому свойственна инсектицидная активность [De Lucca et al., 1981; Martin, Travers, 1989]. Были сделаны предположения, объясняющие присутствие *Bt* в почве: *Bt* вносится в нее насекомыми, поскольку плохо растет в почве; *Bt* способна расти в почве, в которой достаточно питательных веществ [Glare, O'Callaghan, 2000]. Однако после того, как многие штаммы *Bt* были изолированы с поверхности листьев, указывая на то, что они входят в состав микрофлоры листьев, Смит и Куше [Smith, Couche, 1991] предположили, что *Bt* является природным компонентом микрофлоры растений и включается в симбиотические или мутуалистические связи с растениями, чтобы обеспечить их защиту от травоядных.

Присутствие кристаллообразующих бактерий в почве некоторые авторы считают случайным [Вишнякова, Иванов, 1982], другие полагают, что почва является средой для сохранения этих бактерий [Krieg, 1983]. В последнее время существует мнение, о кристаллообразующих бактериях, как об обыкновенных почвенных сапрофитах [Половинко и др., 1997].

Кристаллообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* находят применение в производстве

биопрепаратов для контроля численности насекомых, как альтернатива пестицидам.

Распространение кристаллообразующих бактерий в биоценозе орехово-плодовых лесов Кыргызстана изучено слабо.

Цель настоящей работы изучить особенность распространения *Bacillus thuringiensis* в почвах орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

Орехово-плодовые леса – уникальный, единственный в мире массив реликтовых лесов, сохранившихся со времен господства влаголюбивой третичной флоры. Площадь леса составляет более 630 тысяч га, в том числе около 40 тысяч га с преобладанием ореха грецкого. В лесах произрастает более 100 видов деревьев и кустарников, относящихся к 31 роду и 17 семействам (Охоба, 1990). Наиболее ценными в плодовом хозяйстве породами являются: орех грецкий, фисташка настоящая, миндаль, яблоня, груша, и алыча.

Материалы и методы

Пробы почв брали во второй половине лета в течение (июнь-сентябрь) 2005-2007 гг. Отбор почвенных образцов проводили в лесхозах и заповедных территориях орехово-плодовых лесов юго-западной части Кыргызстана между 40° 5' - 42° 0' с.ш. и 71°45' - 73°40' в.д. на хребтах горной системы Тянь-Шаня, в окрестностях населенных пунктов Тоскоолата, Каралма, Урумбаш, Кааба, Арстанбапата и Сары-Челек Жалалабатской области.

В пределах пояса орехово-плодовых лесов распространены три типа почв: горно-лесные черно-коричневые, горно-лесные коричневые и горные сероземы темные. Формирование нескольких почвенных типов связано с изменением экологических условий в зависимости от абсолютной высоты местности и условий рельефа.

Образцы отбирались стерильно с глубины 2-10 см. Всего проанализировано 450 почвенных образцов.

Выделение Bt из почв проводили по методу Траверс (Travers, et al., 1987) с учетом рекомендаций Калфона (Kalfon et al., 1986), культуры бактерий выращивали на питательной среде «А» (0,7% пептона, 0,5% NaCl, 1,2 % агара).

Идентификацию выделенных культур проводили по определителю бактерий Берги (Краткий определитель..., 1980). Внутривидовую идентификацию Bt проводили по схеме де Баржака и Фрагона (de Barjac, Frachon, 1990). Для постановки серологической реакции использовали иммунную сыворотку (Н1-Н33), полученную в Институте систематики и экологии животных СО РАН.

Значимость вида *B.thuringiensis* (оценка его типичности и положения в структуре доминирования) относительно других почвенных микроорганизмов оценивалась по критерию частоты его встречаемости, на основе схемы, предложенной Г.М.Зеновой и А.В. Кураковым (1988), который имеет следующие градации: а) типичный доминирующий, если пространственная и временная встречаемости $\geq 60\%$, б) типичный частный, если пространственная и временная встречаемости были $\geq 30\%$, в) типичный редкий, если пространственная встречаемость была $< 30\%$, а временная встречаемость была $\geq 30\%$, г) случайный вид, если пространственная и временная встречаемости были $< 30\%$.

Результаты исследований

Кристаллообразующие бактерии обнаружены во всех исследованных типах горных лесных почв орехово-плодовых лесов. Частота пространственной встречаемости кристаллообразующих бактерий *B.thuringiensis* отличалась по типам почв (таб.4): для горных темных сероземов *B. thuringiensis* относится к типичным частным, так как встречаемость этих бактерий превышала 30% изученных образцов. В горных лесных коричневых почвах кристаллообразующие бактерии группы *B. thuringiensis*, как и в серых почвах, отнесены к типичным частным, частота прстранственной встречаемости составляла 34-43,8%. Ряд спорообразующих бактерий не идентифицировались.

Для горных лесных черно-коричневых почв *B.thuringiensis* является типичным доминирующим видом, пространственная встречаемость в течение трех лет составляла соответственно 80%, 64,8% и 75,6% от изучаемых образцов почвы. Частота встречаемости кристаллообразующих бактерий в этих почвах была самая высокая до 80,0% по сравнению с серой и лесной коричневой. Несмотря на

широкое распространение *B. thuringiensis* в изучаемых почвах их обилие невелико и составляла от 0,1 до 1% от численности почвенных бактерий.

Таблица 1

Пространственная частота встречаемости *Bacillus thuringiensis* (Bt) в почвах орехово-плодовых лесов Кыргызстана

Тип почвы	Пространственная частота встречаемости (%) по годам						
	Вид бактерий	2005	*	2006	*	2007	*
Горные темные Сероземы	<i>B.thuringiensis</i>	35,5	ТЧ	40,0	ТЧ	32,6	ТЧ
Горные лесные коричневые	<i>B.thuringiensis</i>	37,5	ТЧ	43,5	ТЧ	34,7	ТЧ
Горные лесные черно-коричневые	<i>B.thuringiensis</i>	80,0	ТД	64,8	ТД	75,6	ТД

* – значимость вида

B. thuringiensis изолируются из горных почв ежегодно, то есть временная встречаемость составляла 100%. Абсолютная численность *Bt* варьировала от единичных находок до 10^4 единиц на 1 г воздушно сухой почвы.

Из почв орехово-плодовых лесов выделено 9 серологических вариантов кристаллообразующих бактерий *Bacillus thuringiensis*: Н1, Н2, Н3abc, Н4ab, Н5ab, Н8ab, Н14, Н17, Н31. (табл.2).

В горных темных сероземах идентифицировано семь, в горных лесных коричневых – пять и в горных лесных черно - коричневых девять видов спорообразующих бактерий. Кроме того, до 15% колоний образующих споры не идентифицировались.

Таблица 2

Встречаемость серологических вариантов *Bacillus thuringiensis* в горных почвах юга Кыргызстана *

Тип почв	Год	Серологические варианты <i>B.thuringiensis</i>									
		Н1	Н2	Н3abc	Н4	Н5	Н8	Н14	Н14* *	Н17	Н31
Темные сероземы	2005	0	1	0	1	4	0	3	16	20	6
	2006	0	0	3	2	1	0	5	19	13	1
	2007	0	0	0	0	1	0	4	14	9	2
Лесные Коричне-вые	2005	0	0	2	0	3	0	5	9	26	15
	2006	0	0	0	1	6	0	8	5	6	14
	2006	0	0	5	1	4	0	3	11	27	9
Лесные черно-коричне-вые	2005	2	1	3	1	5	2	26	7	31	11
	2006	1	1	8	2	3	0	19	12	26	9
	2007	0	1	1	1	8	2	10	23	9	15
Итого за 3 года		3	4	22	9	35	4	83	116	167	82

* – количество выделенных штаммов на 450 почвенных образцов.

** – морфовар с ромбическими кристаллами.

Таким образом, в орехово-плодовых почвах Кыргызстана *B. thuringiensis* встречается ежегодно как типичный почвообитающий представитель с разнообразием серологических вариантов. Из

представленных данных можно сделать следующее заключение, что кристаллообразующие бактерии в черно-коричневых почвах встречаются больше, чем в коричневых и темных серых. Это можно объяснить богатым содержанием гумуса (10-15 и до 20%) в этих почвах и обилием обитающих там дендрофильных насекомых и растительности. Среди идентифицированных кристаллообразующих бактерий общими для всех обследованных типов почв были подвиды Н5, Н14, Н31, Н3. Однако для всех типов почв характерно преобладание сероваров Н17 и Н14. При этом Н14 в основном выделялся в близи мелких (временных и постоянных) водоемов.

Литература:

1. З.В.Вишнякова, Г.М.Иванов. Микробиологическая защита растений в Сибири, Новосибирск, Наука, Сиб.отд-ние, 1982, 17, 24-25.
 2. Доолоткельдиева Т. 2001. Энтомопатогенные кристаллофорные бактерии Кыргызстана и их значение. Бишкек. 160 с.
 3. Г.П.Половинко, Н.В.Богомолова. Встречаемость энтомопатогенных кристаллообразующих бактерий вида *Bacillus thuringiensis* в почвах Сибири и Казахстана. Сибирский экологический журнал, 6, 1997, 571-577.
 4. В.П.Ходырев, Изв. АН СССР Сер.биол., 1990, 15, 788-792.
 5. Г.М.Зенова, А.В.Кураков. Методы определения структуры комплексов почвенных актиномицетов и грибов, М., Изд-во МГУ, 1988.
 6. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. 2-е изд. Под.ред. Н.С.Егорова. Изд. Мос.универ. 1983. 221 с.
 7. S.G.Aptosoglou, S.G.Sivropoulou, S.J.Koliais, *Microbiologica*, 1997,20, 69-76.
 8. P.A.Martin, R.S.Travers, *Appl.& Environ.Microbiol.*, 1989, 55, 2437-2442.
 9. A.M.Heimpel, T.A.Angus, *Bacterial Review*, 1960, 24, 266-288.
 10. A.J.de Lucca, J.G.Simonson, *Can. J.Microbiol.*,1981, 27, 865-870.
 11. C.N.Chilcott, P.J.Wigley, *J.Invert.Path.*, 1993, 61, 244-247.
 12. K.F.Chak, D.C.Chao, M.Y.Tseng et al., *Appl.& Environ. Microbiol.*, 1994, 60, 2415-2420.
 13. R.A.Smith, G.A.Couche, *Appl. & Environ.Microbiol.*, 1991, 57, 311-315.
 14. P.Kaelin, P.Morel,F.Gadani, *Ibid.*,1994,60,19-25.
 15. A.A.Krieg, *Anzeiger fur Schadlingsrunde Pflanzenschutz Umweltschutz*, 1983, 56:3, April, 41-52.
-