

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ  
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ  
ОШСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Межведомственный диссертационный совет Д.03.11.036

**На правах рукописи**  
УДК:595.787:576.8.66:634.5(575.2) (043.3)

**Тешебаева Зулумкан Абдыманаповна**

**ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ  
НЕПАРНОГО ШЕЛКОПРЯДА (*Lymantria dispar* L.) В ОРЕХОВО-  
ПЛОДОВЫХ ЛЕСАХ КЫРГЫЗСТАНА**

03.02.08 – экология

03.02.04 – зоология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Бишкек – 2012

Работа выполнена на кафедре экологии и охраны окружающей среды Ошского технологического университета и в лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск).

**Научные руководители:** академик НАН КР,  
доктор биологических наук, профессор  
**Токторалиев Биймырза Айтиевич**  
доктор биологических наук, профессор  
**Глунов Виктор Вячеславович**

**Официальные оппоненты:** доктор биологических наук, профессор  
**Канаев Ашимхан Токтасынович**  
кандидат биологических наук, доцент  
**Заводчикова Раиса Емельяновна**

**Ведущие (опонирующие) организации:** ТОО «Казахский научно-исследовательский институт защиты и карантина растений»  
Республика Казахстан, 483117, Алматинская область, Карасайский район, с. Рахат  
Лаборатория защиты растений Ботанического сада Уральского отделения РАН Россия, 620134, Екатеринбург, Билимбаевская, 32-А

Защита диссертации состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_2012 г. в \_\_\_ часов на заседании Межведомственного диссертационного совета Д.03.11.036 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора (кандидата) наук при Биолого-почвенном институте Национальной академии наук Кыргызской Республики (соучредитель: Ошский технологический университет Министерства образования и науки Кыргызской Республики), по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке Национальной академии наук Кыргызской Республики по адресу: 720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265а.

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_2012 г.

Ученый секретарь  
Межведомственного  
диссертационного совета,  
к.б.н., с.н.с.



С.Л. Приходько

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

**Актуальность темы.** Насекомые-фитофаги, дающие ежегодные вспышки массового размножения, являются одной из важнейших экологических проблем в лесозащите. Наиболее опасным видом среди насекомых-фитофагов является непарный шелкопряд, повреждающий около 600 видов растений (В.И.Бенкевич, 1984).

Широкомасштабные вспышки непарного шелкопряда ежегодно охватывают огромные массивы орехово-плодовых насаждений Кыргызстана. Наиболее важные последствия вспышек проявляются в виде снижения радиального прироста деревьев, урожайности, частичном или сплошном усыхании массивов, подвергнувшихся дефолиации (К.Е.Романенко, 1984; Б.А. Токторалиев, Н.Б. Байдоолотов, А. Токторалиев и др., 1985; Б.А.Токторалиев, Н.Б. Байдоолотов, К.М. Матикеев и др., 1989; К.С.Ашимов, 1989; А.А.Орозумбеков, 2001; А.А.Орозумбеков, В.И.Пономарев, Б.А.Токторалиев, 2002; В.И. Пономарев, А.А. Орозумбеков, Е.М.Андреева и др. 2008).

Основным средством борьбы с непарным шелкопрядом в Кыргызстане остаются химические методы, а также механический сбор яйцекладок. Не обладая избирательностью действия, химические инсектициды вызывают гибель нецелевых, зачастую полезных для экосистемы организмов (энтомофагов, опылителей и др.), особенно, в наших горных лесах, которые относятся к первой категории.

В этой связи возникает острая необходимость в изыскании и получении перспективных штаммов энтомопатогенных бактерий, вирусов и грибов с высокой инсектицидной активностью и в создании на их основе отечественных биологических препаратов, предназначенных против вредителей леса.

Патогены непарного шелкопряда в Кыргызстане практически не изучены, имеющиеся о них сведения носят эпизодический характер. Поэтому определение возможности и путей использования естественных врагов и препаратов на основе микроорганизмов против непарного шелкопряда в системе мероприятий по защите орехово-плодовых лесов приобретает особое значение и актуальность.

**Связь темы диссертации с научными программами.** Диссертационная работа является одним из направлений научной программы исследований по изучению вредителей и болезней орехово-плодовых лесов Южного Кыргызстана, проводимого сотрудниками кафедры экологии и охраны окружающей среды Ошского технологического университета в рамках проектов по линии Департамента науки, инноваций и научно-технической информации Министерства образования и науки Кыргызской Республики.

**Цель исследования.** Изучение энтомопатогенных микроорганизмов в популяциях непарного шелкопряда орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

**Задачи исследования:**

1. Изучить распространение энтомопатогенных микроорганизмов (вирусов, бактерий, грибов) в орехово-плодовых лесах Кыргызстана;
2. Выделить энтомоцидные штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis*, вируса ядерного полиэдроза и энтомопатогенных грибов, а также характеристика высокоактивных штаммов по отношению к непарному шелкопряду;
3. Оценить возможность использования энтомопатогенных микроорганизмов для контроля численности непарного шелкопряда.

**Научная новизна работы.** Данная работа является первым комплексным исследованием по энтомопатогенным микроорганизмам непарного шелкопряда в условиях орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

В условиях юга Кыргызстана естественными регуляторами численности непарного шелкопряда являются вирус ядерного полиэдроза (49%) и бактерии группы *Bacillus thuringiensis* (31,2%). Энтомопатогенные грибы как *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. и *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et G.Smith имеют существенно меньшее распространение и поражают насекомых преимущественно во влажных стациях вблизи рек (13%).

Впервые изучено распространение и значимость бактерий из группы *Bacillus thuringiensis* в структуре спорообразующих бактерий рода *Bacillus* Cohn в почвах орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана. Выявлено, что они являются типичными представителями почвенной микрофлоры, наряду с такими бациллами как *B.cereus* Frank.-Frank., *B. subtilis* Cohn, *B.megaterium* De Bary и *B.idosus* Burch. Пространственная встречаемость их достигала 80% (в черно-коричневых почвах), а временная 100%. Из этих почв изолировано девять серологических вариантов *Bacillus thuringiensis*: H1, H2, H3abc, H4ab, H5ab, H8ab, H14, H17, H31. Выделены более 100 штаммов бактерий *B. thuringiensis*, дана характеристика 9 подвидам *Bt*, из них 3 подвида *Bt*: H14, H17, H31 обнаружены впервые автором в лесах Кыргызстана. Отобраны новые отечественные высоковирулентные штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis* (H5ab и H3abc) и вируса ядерного полиэдроза, по отношению к гусеницам непарного шелкопряда.

**Практическая значимость полученных результатов.** Определена роль выделенных энтомопатогенов в снижении численности непарного шелкопряда и предложены наиболее перспективные биологические методы. Отобраны высокоэффективные штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis*: штаммы 10 и 57 (H3abc); 112, 15 (H5ab) и штамм 11 вируса ядерного по-

лиэдроза -перспективных для создания на их основе биопрепаратов для контроля численности непарного шелкопряда, биологическая эффективность которых 1,8-2 раза выше контрольных штаммов из коллекции Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук. Штаммы внедрены в практику лесозащитных мероприятий по надзору и биологической борьбе с непарным шелкопрядом в поясе орехово-плодовых лесов лесорастительных зон Жалал-Абадской области (акт прилагается).

Показана перспективность и эффективность использования выделенных энтомопатогенов в борьбе с непарным шелкопрядом, что позволит снизить пестицидную нагрузку на биогеоценоз, что особенно важно в горных орехово-плодовых лесах Кыргызстана.

Полученные материалы исследований используются при чтении курсов «Лесная экология и технология защиты леса», «Общая экология» на кафедре экологии и охраны окружающей среды в Ошском технологическом университете и «защита леса», «лесная энтомология» «агроэкология» в Кыргызском национальном аграрном университете им. К.И. Скрябина.

**Экономическая значимость полученных результатов.** Отобранные высоковирулентные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis* (H5ab и H3abc) и вируса ядерного полиэдроза из семейства Baculoviridae, могут быть использованы для наработки и производства биопрепаратов, предназначенных для защиты орехово-плодовых лесов от вредителей.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту.**

1. Распространение энтомопатогенных микроорганизмов в лесных биоценозах орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

2. Болезни непарного шелкопряда и их роль в естественной регуляции численности вредителя.

3. Оценка эффективности отобранных энтомопатогенных микроорганизмов против гусениц непарного шелкопряда и разработка на их основе биопрепаратов для лесозащитных мероприятий.

**Личный вклад соискателя.** Исследования по экологии и распространению энтомопатогенных микроорганизмов непарного шелкопряда, лесных насекомых и почв орехово-плодовых лесов Южного Кыргызстана проведены соискателем лично.

**Апробация результатов диссертации.** Основные результаты исследований доложены и обсуждены на Международных конференциях: «Биологическая защита растений и пути ее рационального использования» (Ташкент, 2008), «Актуальные проблемы инженерной техники и современных технологий» (ОшТУ, 2008); Республиканской науч-

ной конференции «Актуальные проблемы сохранения биоразнообразия Кыргызстана» (ОшГУ, 2009); на межлабораторном семинаре Института систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН (Новосибирск, 2009); на расширенном совместном заседании кафедры экологии и охраны окружающей среды и кафедры биологии и биотехнологии Ошского технологического университета (Ош, 2009).

**Полнота изложения результатов диссертации в публикациях.** По материалам диссертации опубликовано 14 научных работ.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, 3-х глав, выводов, практических предложений и списка использованных источников из 226 наименований, в том числе 84 на иностранном языке. Диссертационная работа выполнена в компьютерном исполнении и включает 174 страниц, включая список литературы, имеет 27 таблиц и 22 рисунка.

**Благодарность.** Автор выражает искреннюю благодарность академику НАН КР, д.б.н., проф. Токторалиеву Б.А. и д.б.н., профессору Глупову В.В. за руководство научной работой, в.н.с. лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (г. Новосибирск), к.б.н. Ходыреву В.П. за всестороннюю помощь в проведении исследований и консультации на всех этапах выполнения данной работы.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Глава 1. Состояние изученности вопроса.** Приводится анализ данных литературы, посвященных изученности вопроса экологии, биологии, распространению и патогенам непарного шелкопряда. Проанализированы работы по бактериальным, вирусным, грибным болезням насекомых, в том числе по болезням непарного шелкопряда и перспективы использования биопрепаратов для контроля численности вредителей леса. Приводится характеристика лесорастительных и почвенно-климатических условий орехово-плодовых лесов.

Исследования проводились в орехово-плодовых лесах в Южной части Кыргызстана на западных и юго-западных склонах Ферганского и Чаткальского хребтов Юго-Западного Тянь-Шаня в лесхозах орехово-плодовых лесов Тоскоол-Ата, Урумбаш, Кара-Алма, Гава, Арстанбап-Ата и в Сары-Челекском государственном биосферном заповеднике, а лабораторные исследования проводились на базе лаборатории патологии насекомых Института систематики и экологии животных СО РАН (г. Новосибирск, Россия) и в лаборатории биогеоценологии кафедры «Экологии и охраны окружающей среды» Ошского технологического университета.

**Глава 2. Материал и методы исследования.** Рассматриваются вопросы экологии, зоологии, микробиологии, в частности методика полевых исследований почвы орехово-плодовых лесов, естественно погибших и больных насекомых в природе, а также обнаруженные энтомопатогены. Сбор естественно погибших насекомых и почвенных образцов проводили в течение 2005-2008 гг. в середине лета (июне-июле) в очагах массового размножения непарного шелкопряда.

Было проанализировано 600 трупов гусениц непарного шелкопряда, 150 трупов лесных насекомых разных отрядов, 450 почвенных образцов.

Диагностику вирусной, бактериальной, грибной и других инфекций у насекомых проводили по внешним признакам и микроскопическому исследованию внутренних органов и тканей с помощью световой и электронной микроскопии общепринятыми стандартными методами. Микробиологический анализ почвенных образцов проводили в пределах основных трех типов почв орехово-плодовых лесов: горные сероземы, горно-лесные коричневые и горно-лесные черно-коричневые. Значимость вида (оценка его типичности и положение в структуре доминирования) относительно других спорообразующих бактерий и грибов оценивали по критерию частоты его встречаемости, на основе схемы (Т.Г. Мирчинг, С.М. Озерская, О.Е. Марфинина, 1982), для почвенных микроорганизмов. Пространственную частоту встречаемости получали отношением числа образцов, в которых вид обнаружен, к общему числу проанализированных образцов (H.D.Gresner, M.P.Vacus, I.T.Curtis, 1954; Т.Г. Мирчинг, 1984).

Проведен отбор почвенных образцов и микробиологический анализ иловых отложений у берегов озера Сары-Челек и мелких водоемов Арстанбап-Атинского лесхоза. Культурально-морфологические свойства бактерий изучали на плотных питательных средах различного состава, выращивая их до полной споруляции в течение 6 суток при 28<sup>0</sup> С. Способность штаммов Vt продуцировать параспоровые включения, форму и размер кристаллов оценивали с помощью светового микроскопа в фиксированных, окрашенных карболовым эозином препаратах.

Видовой состав спорообразующих бактерий определяли по определителям бактерий (Н.А.Красильников, 1949; Д.Хоулт, 1980). Внутривидовую идентификацию Vt проводили по схеме де Баржак и Фрахон (H. De Barjas, E. Frachon, 1990). Для постановки серологической реакции использовали иммунные сыворотки 1-34 Н- антигенов, находящиеся в Институте систематики и экологии животных СО РАН. Видовую принадлежность грибов устанавливали по микроскопическим признакам (А.А.Евлахова, 1974; Э.З. Коваль, 1974; R.A.Humber, 1997; Г.Р. Леднев, Б.А. Борисов, Г.В. Митина, 2003).

Биологическую активность исследуемых культур определяли по стандартным методикам. Биотестирование выделенных штаммов проводили на гусеницах: непарном шелкопряде (*Lymantria dispar* L.) и большой вошинной моли (*Galleria melonella* L.). Полученные данные в опытах обрабатывались методом статистики и дисперсионного анализа (Б.А.Доспехов,1985).

### **Глава 3. Результаты собственных исследований и их обсуждение**

**3.1. Экологическая и лесопатологическая обстановка в орехово-плодовых лесах Кыргызстана.** Приводится экологическая обстановка в орехово-плодовых лесах Кыргызстана и лесопатологическое состояние.

В настоящее время одной из основных причин экологического неблагополучного состояния и проблем лесозащиты в орехово-плодовых лесах Кыргызстана является перманентная вспышка непарного шелкопряда. Очаги заражения непарным шелкопрядом в орехово-плодовых лесах ежегодно составляют более 20 тыс. га.

Основными кормовыми растениями и вспышки численности непарного шелкопряда в этих лесах являются: яблоня Киргизов (*Malus kirghisorum* Theodet. Fed.), яблоня Недзевецкого (*Malus niedzweckiana* Dick), фисташка настоящая (*Pistacia vera* L.), орех грецкий (*Juglans regia* L.), миндаль обыкновенный (*Amygdalus communis* L.), слива домашняя (*Prunus domestica* L.), слива растопыренная (*Prunus divaricata* L.), боярышник туркестанский (*Crataegus turkestanica* A.Pojark), клен туркестанский (*Acer turkestanicum* Pach.), тополь белый (*Populus alba* L.). Эти растения наиболее значительно подвергаются дефолиации в результате вспышек численности вредителя. Так, с 2005 по 2008 гг. в исследованных лесхозах уровень дефолиации кормовых растений изменялся от 70% до 100%, а наибольшая плотность гусениц старших возрастов шелкопряда достигала 900 особей на одно дерево. В обследуемых насаждениях в период проведения исследований дефолиация насаждений составила в среднем 70%. Большей частью очаги шелкопряда действовали в лесах, расположенных на высоте от 800 до 1800 м над уровнем моря на склонах юго-восточных, юго-западных, южных и западных ориентаций в насаждениях лесхозов: Тоскоол-Ата, Урумбаш, Кара-Алма, Арстанбап-Ата и Гава. Распространение непарного шелкопряда включало как склоны крутизной 11-35<sup>0</sup> и более, так и равнинные участки. Выявлено, что крутизна склонов не влияет на образование очагов непарного шелкопряда, и они распространены во всех вертикальных поясах.

Приведенные данные подтверждают исследования Б.А.Токторалиева (1996) о том, что в орехово-плодовых лесах Кыргызстана имеется большое число неблагоприятных экологических факторов, воздействующих

на состояние лесных ценозов. В большинстве случаев действует не один, а комплекс факторов. Общей причиной ослабления орехово-плодовых лесов, безусловно, является и несовершенство ведения лесного хозяйства и в частности лесозащитных мероприятий против вредителей, трудности их осуществления в горных условиях. Все это способствует тому, что листогрызущие вредители имеют большие возможности для расселения и размножения в орехово-плодовых лесах.

**3.2.1. Распространение энтомопатогенных микроорганизмов в орехово-плодовых лесах Кыргызстана.** Приведены основные результаты исследований по экологии распространения энтомопатогенных микроорганизмов в лесах Кыргызстана.

В период наблюдений ежегодно в июне-августе отмечали заболевание и смертность гусениц и куколок непарного шелкопряда различной этиологии. Количество погибших гусениц варьировало от 10 до 30% от общей численности. Смертность гусениц наступала у старших возрастов (IV-VI). В результате индивидуального микробиологического анализа 600 трупов непарного шелкопряда установлено, что естественная смертность насекомых была вызвана бактериальными, вирусными, грибными и смешанными инфекциями (табл.3.2.1).

Таблица 3.2.1- Этиология погибших гусениц непарного шелкопряда в орехово-плодовых лесах Кыргызстана

Лесхозы	Изучено, экз.	Количество гусениц погибших от инфекций, экз.(%)			
		вирусной	бактериальной	микозной	смешанной
2005 г.					
Тоскоол-Ата	70	31 (44,3)	26 (37,1)	8 (11,4)	5 (7%)
Кара-Алма	120	40 (33,3)	61 (50,8)	13 (10,9)	6 (5%)
2006 г.					
Урумбаш	150	90 (60,0)	34 (22,6)	22 (14,7)	4 (2,6%)
Гава	50	31 (62,0)	14 (28)	5 (10,0)	-
Кара-Алма	50	22 (44,0)	10 (20)	11 (22,0)	7 (14%)
2007г.					
Урумбаш	35	17 (48,6)	8 (22,8)	5 (14,3)	5 (14,3%)
Кара-Алма	60	28 (46,7)	16 (26,7)	9 (15,0)	7 (12%)
Арстанбап-Ата	65	35 (53,8)	18 (27,8)	6 (9,2)	6 (9%)
Итого в %	600	294 (49%)	187 (31,2%)	79 (13,2%)	40 (6,6%)

На основании проведенных исследований установлено, что наибольшее количество зараженных особей погибало от кристаллообразующих бактерий *Bacillus thuringiensis* (Bt) (31,2%) и вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) (49%). Энтомопатогенные грибы как *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. и *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et G.Smith

имеют существенно меньшее распространение и поражают насекомых преимущественно во влажных стациях вблизи рек (13%). Отмечены также смешанные болезни, вызываемые одновременно двумя или несколькими возбудителями: бактериоз с вирусом, микоз с бактериозом и т.д. Процент таких особей составлял 6,6 %. В основном насекомые, погибшие от смешанных инфекций, были поражены ВЯП и кристаллообразующими бактериями *Bt*.

**3.2.2. Встречаемость *Bt* в трупах непарного шелкопряда.** Доля смертности от бактерий составляла за три года наблюдений 31,2%. В то же время возможна

и большая доля смертности (более 50%), что отмечено в 2005 г. в Кара-Алминском лесхозе. Идентификация кристаллообразующих бактерий показала, что септицемии непарного шелкопряда вызывали преимущественно два подвида *Bacillus thuringiensis* (табл.3.2.2.1).

Это подвид *galleriae* (H5ab), который ежегодно вызывал заболевания гусениц непарного шелкопряда, в пределах от 50,0 до 73,0 %, и подвид *kurstaki* (Зabc), – от 25,0 до 35,3%. В лесхозах Урумбаш и Арстанбап-Ата септицемия гусениц на 14,7-25,0 % была вызвана подвидом *toguchini* (H31).

Важно отметить, что в рассевах встречались также единичные колонии подвидов *thuringiensis* (H1), *finitimus* (H2), *sotto* (H4ab), *morrisoni* (H8), *israelensis* (H14), *tohokuensis* (H17) и *toguchini* (H31). Из рода *Bacillus* в трупах непарного шелкопряда широко встречается *B. cereus* Frank.-Frank., *B. subtilis* Cohn., *B. sphaericus* Meyer and Neide, реже *B. mycoides* Flug., *B. megaterium* De Bary (табл.3.2.2.1).

Таблица 3.2.2.1- Смертность гусениц непарного шелкопряда в природе от сероваров *Bacillus thuringiensis*

Лесхозы	Год	*	Серовары, количество в %			
			H5ab	H3abc	H31	единичные изоляты
Тоскоол-Ата	2005	26	73,0	27,0	-	H17, H31
Кара-Алма		61	70,5	29,5	-	H4ab, H8, H31
Урумбаш	2006	34	50,0	35,3	14,7	H1, H4ab,
Гава		14	71,4	28,6	-	H1, H17
Кара-Алма		10	70,0	30,0	-	H14, H31
Урумбаш	2007	8	50,0	25,0	25,0	H4ab, H8
Кара-Алма		16	68,7	31,3		H14
Арстанбап-Ата		18	55,6	27,8	16,6	H14, H2

Прим. \* – количество гусениц, погибших от *B.thuringiensis*

Таким образом, при бактериальной эпизоотии непарного шелкопряда в условиях орехово-плодовых лесов нами выделены несколько подвидов *Bacillus thuringiensis*, причем септицемию вызывали бактерии H5ab, H3abc, H31.

**3.2.3. Распространение вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) в природных популяциях непарного шелкопряда юга Кыргызстана.** Микроскопические исследования гомогенатов тела погибших и больных особей непарного шелкопряда показали, что во всех очагах среди больных и погибших насекомых выявлено значительное количество особей (49-63%), в теле которых присутствуют полиэдры ВЯП. Заболевание ядерным полиэдрозом в популяциях непарного шелкопряда часто обусловлено активацией скрытой вирусной инфекцией. Система насекомое-вирус, находится в равновесии до субоптимальных или экстремальных факторов, с их появлением снижается и резистентность насекомого (С.А.Бахвалов, А.В. Ильиных, З.А. Тешебаева, 2007). Можно предположить, что одним из стрессовых факторов, влияющим на активацию вируса в горных орехово-плодовых лесах оказалась высокая степень дефолиации кормовых растений.

Большое количество погибших от вирусной инфекции насекомых свидетельствует, что вирус ядерного полиэдроза оказывает важное влияние на динамику численности непарного шелкопряда, являясь одним из решающих факторов деградации очагов массового размножения.

**3.2.4. Распространение энтомопатогенных грибов в популяциях лесных насекомых и в почвах орехово-плодовых лесов Кыргызстана.** Анализ культур, выделенных из собранных образцов показал, что они относятся в основном к гифомицетам. В частности были выделены изоляты представителей родов: *Beauveria*, *Paecilomyces*, *Isaria*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Helminthosporium*, *Macrosporium*, *Trichoderma* (Deuteromycota: Hyphomycetales).

Погибшие от микоза насекомые относились к отрядам Lepidoptera и Coleoptera. Найденные единичные трупы *Coccinella septempunctata* были поражены *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill и *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et G. Smith, а также многочисленные трупы листоеда *Agelastica alni* Baly (имаго, более 300 шт.) были поражены грибом *B. bassiana*, а единичные экземпляры этого же вида насекомых поражались *Tolyposcladium sp.* и *Penicillium sp.*

Анализ структуры видового состава выделенных грибов показал, что в микобиоте трупов вредителей насекомых из известных энтомопатогенных грибов доминируют *B. bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces sp.*, *Tolyposcladium sp.* и *Isaria farinosa* (Holmsk.) Fr. Смертность насекомых от энтомопатогенных грибов наблюдалось в основном

на энзоотическом уровне. В частности, в микрофлоре трупов непарного шелкопряда виды энтомопатогенных грибов составили - 29%, а сапрофитных - 71%.

Грибные инфекции в популяции непарного шелкопряда за три года составили в среднем - 13,2%. Максимальный показатель смертности от микозов (22%) отмечен в 2006 г. в Урумбашском лесхозе.

Проведенные исследования показали, что в условиях орехово-плодовых лесов непарный шелкопряд из энтомопатогенных грибов чаще поражался грибами *B. bassiana*, реже *Paecilomyces sp.* и *I.farinosa*. Из сапрофитных грибов в микрофлоре трупов встречались грибы из родов *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Macrosporium*.

Видовой состав грибов горных черно-коричневых почв наиболее разнообразен, чем горно-лесных и темных сероземных. Было установлено, что микроскопические грибы родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Macrosporium* доминировали во всех типах почв. По распространенности встречаемости они относятся к типичным частным, так как встречаемость этих грибов превышала 30% изученных образцов. Значительно реже выделялись из почв *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces sp.*, *Tolyiocladium sp.*, *Cephalosporium sp.*, *Verticillium sp.*, *Trichoderma lignorum*, *Helmendhosporum sp.*, которые при ежегодном выделении отмечались как типичные редкие.

Таким образом, доминировали из сапрофитных грибов как в микрофлоре погибших насекомых, так и в почвах представители из родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*.

**3.3. Распространение бактерий рода *Bacillus* Cohn в лесных насекомых орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана.** Как показали исследования, *Bacillus thuringiensis* встречается не только в организме непарного шелкопряда, но и других видах лесных насекомых орехово-плодовых лесов.

Большинство погибших насекомых относилось к отряду Coleoptera, реже встречались Orthoptera, Odonata. Из погибших жуков и имаго прямокрылых выделены кристаллообразующие и спорообразующие бактерии. Из жуков *Copris minutes* L. выделяли *B. ssp. kurstaki*, из *Cetonia aurata* L. - *B. toguchini*, из колорадского жука-штаммы *B.morisoni var.tenetbrionis*, а из ряда видов жесткокрылых насекомых в массе выделялись *B.pumilus* и *B. cereus*. Из личинок прямокрылых выделялся подвид *Bt.ssp.tohokuensis*, *B.subtillus*, *B. cereus*.

Кроме основной патогенной микрофлоры многие виды жесткокрылых насекомых были носителями подвидов кристаллообразующих бактерий. Единичные находки подвидов *galleriae* (H5), *tohokuensis* (H17), *kurstaki* (H3abc), *toguchini* (H31) отмечены у жесткокрылых насекомых,

смертность насекомых от кристаллообразующих бактерий наблюдалось на энзоотическом уровне.

Насекомые различных систематических групп являются бациллоносителями *Bt*, *B. cereus* и других бактерий. Кроме *B.thuringiensis* септицемию у насекомых вызывали так называемые потенциальные патогены родов *Bacillus*. Весьма актуальным является отбор культур с наибольшей биологической активностью для контроля численности фитофагов.

**3.4. Распространение *Bacillus thuringiensis* в структуре сообщества спорообразующих бактерий рода *Bacillus Cohn* в почвах орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана.** В табл. 3.4.1 представлены результаты пространственной и временной частоты встречаемости спорообразующих бактерий в течение 2005-2007 гг. в зависимости от типов почв.

Таблица 3.4.1- Структура сообщества спорообразующих бактерий в почвах орехово-плодовых лесов Кыргызстана

Тип почвы	Пространственная частота встречаемости (%) по годам						
	Вид бактерий	2005	*	2006	*	2007	*
Горные темные сероземы	<i>B.cereus</i>	48,6	ТЧ	35,7	ТЧ	33,5	ТЧ
	<i>B.idosus</i>	12,4	ТР	39,3	ТЧ	28,0	ТР
	<i>B.pumilus</i>	26,7	ТР	16,6	ТР	14,5	ТР
	<i>B.megaterium</i>	47,6	ТЧ	44,7	ТЧ	32,1	ТЧ
	<i>B.mycoides</i>	9,0	ТР	32,0	ТЧ	15,8	ТР
	<i>B.subtilis</i>	64,5	ТД	76,3	ТД	68,6	ТД
	<i>B.thuringiensis</i>	35,5	ТЧ	40,0	ТЧ	32,6	ТЧ
Горные лесные коричневые	<i>B.cereus</i>	46,5	ТЧ	42,6	ТЧ	64,3	ТД
	<i>B.idosus</i>	21,7	ТР	16,3	ТР	37,4	ТЧ
	<i>B.megaterium</i>	24,2	ТР	20,6	ТР	28,3	ТР
	<i>B.subtilis</i>	32,0	ТЧ	39,4	ТЧ	42,7	ТЧ
	<i>B.thuringiensis</i>	37,5	ТЧ	43,5	ТЧ	34,7	ТЧ
Горные лесные черно-коричневые	<i>B.cereus</i>	39,5	ТЧ	34,8	ТЧ	14,8	ТР
	<i>B.circulans</i>	14,5	ТР	23,0	ТР	36,8	ТЧ
	<i>B.idosus</i>	64,5	ТД	77,6	ТД	63,7	ТД
	<i>B.laterosporus</i>	35,8	ТЧ	27,3	ТР	36,6	ТЧ
	<i>B.megaterium</i>	85,8	ТД	76,7	ТД	80,5	ТД
	<i>B.mycoides</i>	37,9	ТЧ	27,4	ТР	32,1	ТЧ
	<i>B.pumilus</i>	30,2	ТЧ	32,3	ТЧ	34,7	ТЧ
	<i>B.subtilis</i>	73,7	ТД	6,95	ТД	63,7	ТД
<i>B.thuringiensis</i>	80,0	ТД	64,8	ТД	75,6	ТД	

Прим. \* – значимость вида по результатам анализа 450 почвенных образцов; ТЧ - типичный частный вид; ТД - типичный доминирующий вид; ТР - типичный редкий вид.

Для горных темных сероземов *B. subtilis* Cohn. является типичным доминирующим, частота пространственной встречаемости в течение трех лет варьировала от 64,5% до 76,3%. По пространственной встречаемости

*B. cereus* Frank.-Frank., *B. megaterium* De Bary и *B. thuringiensis* относятся к типичным частным, так как встречаемость этих бактерий превышала 30% изученных образцов. В этом типе почв *B. pumilus* Meyer and Gott., *B. mycooides* Flug. и *B. idosus* Burch. при ежегодном выделении отмечались как типичные частные или типичные редкие.

В горных лесных коричневых почвах типичными доминантами являются *B. cereus*, *B. subtilis*. Кристаллообразующие бактерии группы *B. thuringiensis*, как и в серых почвах, отнесены к типичным частным. Бактерии *B. idosus* представлены, как типичный частный вид. В изученных образцах не выделялись *B. mycooides*, *B. pumilus*.

Для горных лесных черно-коричневых почв типичными доминирующими являются *B. subtilis*, *B. idosus*, *B. megaterium*, *B. thuringiensis*. Пространственная встречаемость этих бактерий превышала 60% от изучаемых образцов почвы.

Частота встречаемости кристаллообразующих бактерий у них была самая высокая (64.0-80,0%) по сравнению с серой и лесной коричневой. В то же время пространственная встречаемость *B. cereus* отмечалась как типичный частный вид, так и типичный редкий вид. Бациллы *B. mycooides*, *B. pumilus* и *B. circulans* Jordan встречались преимущественно как типичные частные, а *B. laterosporus* Laubach - как типичный редкий вид.

Все виды бацилл, представленные в таб.3.4.1 изолируются из горных почв ежегодно, то есть временная (годовая) встречаемость составляла 100%.

Численность спорообразующих бактерий для черно - коричневых почв была в среднем  $6 \times 10^4$ , лесных коричневых  $1,8 \times 10^4$  и в сероземах  $2,5 \times 10^4$  КОЕ на 1 г почвы.

Таким образом, исходя из пространственной и временной встречаемости, в структуре спорообразующих бактерий горных лесных типов почв значимость видов не одинаковая. В структуре наиболее типичных бацилл как *B. cereus*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *B. idosus* и других кристаллообразующие бактерии *B.thuringiensis* представлены также как типичные. Несмотря на широкое распространение *B. thuringiensis* в изучаемых почвах их обилие невелико и достигало 0,5 % для темных сероземов и коричневых почв и 1% от численности почвенных бацилл.

Из горных темных сероземов было изолировано - 8, из лесных коричневых - 7 и черно-коричневых - 9 подвидов *B. thuringiensis*. Во всех типах почв наиболее распространенными и обильными оказались три серологических варианта: Н14, Н17 и Н31.

Из образцов почв, взятых по берегам водоемов, идентифицировано три вида спорообразующих бактерий: *B. cereus*, *B. subtilis* и *B. idosus* с вариацией численности соответственно от 4,8 до 29 тыс./г, от 2 до 17,7

тыс./г и от 0,9 до 10,5 тыс./г почвы. Самая большая плотность *B. thuringiensis* отмечена в илистых отложениях богатых микроэлементами и органикой, по берегам некоторых мелких водоемов, примыкающих к оз. Сары-Челек, где их численность достигает соответственно 12,6 и 18% от общей численности споровых бактерий.

В образцах из почвенного ила изолировано три серологических варианта *B. thuringiensis*, доминировали H14, при чем их численность достигала 18% от общей численности бактерий.

Типичными представителями темных сероземов, коричневых и черно-коричневых почв являются преимущественно *B.subtilis*, *B.cereus*, *B. megaterium* и *B.idosus*. Находясь в комплексе этих гетеротрофных бактерий, кристаллообразующие бактерии являются типичными частными или типичными доминирующими. Горные лесные черно-коричневые почвы более благоприятны для развития спорообразующих бактерий, в том числе и для *B.thuringiensis*, по сравнению с темными сероземами и коричневыми почвами.

Из почв орехово-плодовых лесов выделено 9 серологических вариантов кристаллообразующих бактерий (табл.3.4.2).

Таблица 3.4.2 -Изоляты *Bacillus thuringiensis* в горных почвах юга Кыргызстана

Тип почв	Год	Серологические варианты <i>B.thuringiensis</i> , количество изолятов									
		H1	H2	H3abc	H4ab	H5ab	H8ab	H14	H14*	H17	H31
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 коричневые	2005	0	0	2	0	3	0	5	9	26	15
	2006	0	0	0	1	6	0	8	5	6	14
	2007	0	0	5	1	4	0	3	11	27	9
Лесные черно-коричневые	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
Изолятов всего		3	4	22	9	35	4	83	116	167	82

Прим. \* – морфологический вариант с ромбическими кристаллами

Исходя из пространственной и временной встречаемости, при наличии благоприятных условий *B. thuringiensis* не только может длительно сохраняться в почвах, но и размножаться там, как гетеротрофы.

**3.5.1. Изучение энтомоцидных штаммов микроорганизмов выделенных в лесах Кыргызстана.** Для изучения взяты штаммы, выделенные в орехово-плодовых лесах Кыргызстана следующих подвидов *Bacillus thuringiensis*: *Bt spp. kurstaki* (H3abc); *Bt spp. dendrolimus* (H4ab);

*Bacillus thuringiensis subsp. galleriae* (H5ab); *Bt spp. tenebrionis (morrisoni)* (H8ab); *Bt ssp. israelensis* (H14); *Bt subsp. toguchini* (H31).

Для выделения бактериальных культур с высокой продуктивностью спор и кристаллов и высокой вирулентностью провели отбор штаммов, изолированных из почвы и насекомых на питательных средах «А» и «РПА».

Результаты по определению особенностей морфологии колоний, скорости их роста, споро- и кристаллообразования показали, что на «РПА» наблюдается задержка роста споро-и кристаллообразования подвидов *Bt*. Оптимальной средой для споро-и кристаллообразования *Bt* является среда «А»; на этой среде процент кристаллообразования наибольший, но при отборе штаммов с высокой продуктивностью спор и кристаллов и высокой вирулентностью лучше всего эксперименты проводить на обеих средах. На «РПА» при расसेве четко наблюдалось S-формы, которые при расसेве на среде «А» не всегда выявляются, в S –формах споро-и кристаллообразование идет медленно, кристаллы мельче и образуются в меньшем количестве. Результаты показали, что высоковирулентные штаммы бактерий *Bt* (биологическая активность до 100%) на первые сутки инкубирования показали массовое формирование спор и кристаллов, и начало высыпания кристаллов до 5%, на четвертые сутки процент споро-кристаллообразования достигало до 99%.

Установлено, что и из почвы можно изолировать штаммы с высокой продуктивностью спор и кристаллов, и высокой вирулентностью, которые при инкубировании на двух средах дают полное высыпание кристаллов и спор (до 99%). Таким образом, из патологического материала отобраны культуры с высокой продуктивностью споро-кристаллического комплекса, которые сохраняли структуру колоний в R-форме при пересевах. Это белые, бело-серые колонии с зернистой поверхностью, которые мы взяли для биотестирования непарного шелкопряда и других насекомых: штаммы 15, 112, 116 *Bacillus thuringiensis subsp. galleriae* (H5ab), выделенные из *Lymantria dispar* L.; штаммы 160, выделенные из почвы; штаммы 10, 57, 3 подвида *kurstaki*, выделенные из непарного шелкопряда и *Calosoma sycophanta* L. и штамм 30 подвида *sotto(4ab)* выделенный из *Lymantria dispar* L.

Кристаллообразующие штаммы *Bt* продуцировали параспоровые включения бипирамидальной, ромбовидной, округлой, квадратной формы, бесформенные и нетипичной формы. Размеры кристаллов значительно варьировали. Штаммы одного подвида могли продуцировать разные по форме и размерам кристаллы с разной специфичностью.

С иммунными сыворотками для подвидов *thuringiensis*, *finitimus*, *kurstaki*, *dendrolimus*, *galleriae*, *tenebrionis (morrisoni)*, *israelensis*,

*tohokuensis*, *toguchini* нами поставлена реакция агглютинации. Все изолированные из насекомых и почвы культуры агглютинировали с типовыми иммунными сыворотками для подвидов *kurstaki*, *thuringiensis*, *finitimus*, *dendrolimus*, *galleriae*, *tenebrionis (morrisoni)*, *israelensis*, *tohokuensis*, *toguchini*.

**3.5.2. Структура и состав дельта-эндотоксина *Bt*.** Структуру белка кристаллов изучали с помощью электрофореза методом SDS-PAGE в геле (рис.3.5.2). Хотя штаммы 1, 10, 57 были выделены из различных источников: насекомых (красотела пахучего, найденного в лесхозе Кара-Алма, непарного шелкопряда из Урумбашского лесхоза) и почвы, собранной в лесхозе Тоскоол-Ата, они имели одинаковый белковый профиль, который совпадал с белковым профилем типового штамма *Bt ssp. kurstaki* кристовара К-1. У всех этих штаммов присутствовало два белка молекулярной массой 130 и 65 кДа.

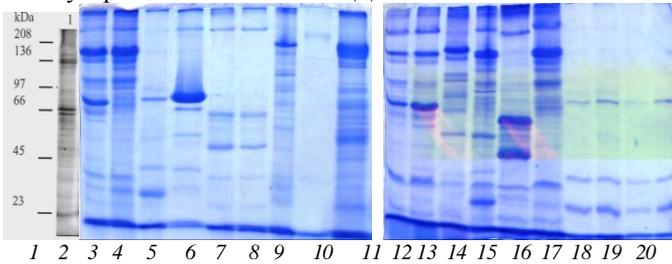


Рис. 3.5.2 Электрофорез кристаллов культур *B. thuringiensis*

1 – типовой штамм Z-52 (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*) – продуцент лепидодида; 2-штамм 10; 3-штамм 15; 4-штамм 485; 5-штамм 218; 6-штамм 3; 7-штамм 127; 8-штамм C5к25; 9-штамм Сч21; 10-штамм 133; 11-штамм 57; 12-штамм 1; 13-штамм 30; 14-штамм 112; 15-штамм 6; 16-штамм 160; 17-штамм СЗк30; 18-штамм С1к2; 19-штамм А38; 20-штамм С1К3.

Известно, что штаммы серовара *H4ab* по биохимическим свойствам разделяются на биовары *sotto* и *dendrolimus*. Возможно, штаммы C5к25 из почвы Арстанбап-Ата и штамма 30 из непарного шелкопряда лесхоза Тоскоол-Ата относились к разным биоварам. Электрофоретический анализ выявил у этих штаммов мажорный белок порядка 135 кДа, а минорные белки различались. Штаммы 15 и 112, выделенные из гусениц непарного шелкопряда, найденных в лесхозе Кара-Алма и лесничестве Урумбаш, по серологическим свойствам были отнесены к штаммам *Bt ssp. galleriae*. Оба штамма имели мажорный белок порядка 135 кДа, однако белковые профили минорных белков различались как по составу, так и по молекулярной массе. Показано, что штаммы данного подвида разделяются на несколько морфовариантов, которые различаются по ряду физиоло-

го-биохимических свойств, продуктивности и инсектицидности (Л.И. Бурцева, 1987; Л.И. Бурцева, М.В. Штерншис, Г.В. Калмыкова, 2001). Возможно, выделенные культуры и относятся к разным морфоварам.

Белковый профиль штамма 218, отнесенного к *Bt ssp. morrisoni*, соответствовал штаммам этого подвида с активностью против насекомых отряда Coleoptera. Молекулярная масса белка составляла около 70 кДа.

Параспоровые включения типового штамма *Bt ssp. israelensis*, как правило, состоят из белков молекулярной массы порядка 130,72,42,28 кДа. В нашем исследовании все пять штаммов *Bt ssp. israelensis* не различались между собой по составу белков; наиболее ярко были выражены белки с молекулярной массой 72 и 28 кДа.

Штаммы 3,6, 127 (два первых выделены из непарного шелкопряда Кара-Алминского лесхоза, а последний из жука дровосека лесхоза Тоскол-Ата) по белковому профилю совпадали с типовым штаммом *Bt ssp. toguchini*. Электрофоретический анализ этих штаммов выявил у них два белка массой 60 и 40 кДа.

Анализ с помощью электрофореза в SDS-PAGE спорокристаллических смесей изученных штаммов *Bt* показал соответствие и сохранность состава белков и молекулярного веса мажорных белковых полос с контрольными образцами бактерий. Применение этого метода значительно облегчает обнаружение энтомопатогенных штаммов.

**3.5.3. Определение биологической эффективности штаммов *Bt* на непарном шелкопряде.** Вирулентность изолятов подвида *galleria (H5ab)*, выделенных из гусениц непарного шелкопряда, определяли на гусеницах непарного шелкопряда и на гусеницах большой вошинной моли *Galleria mellonella* L. младших возрастов (таб.3.5.3.1).

Таблица 3.5.3.1-Активность изолятов *Bacillus thuringiensis* в отношении *Galleriae mellonella* L. и *Lymantria dispar* L.

Штаммы	Изолирован из гусениц	Тест-Объект	ЛК50 млн/мл	Границы 95%-ных доверительных интервалов
15 (H5ab)	L.d.	G.m.	3,20	2,92 -3,48
112 (H5ab)	L.d.	G.m.	2,40	2,21-2,59
116 (H5ab)	L.d.	G.m.	3,77	3,46-4,08
207 (H5ab)	Контроль	G.m.	3,53	3,25-3,81
15 (H5ab)	L.d.	L.d.	3,99	3,72-4,27
112 (H5ab)	L.d.	L.d.	3,42	3,14-3,70
116 (H5ab)	L.d.	L.d.	5,18	4,74-5,61
207 (H5ab)	Контроль	L.d.	5,5 6	5,14-5,98
10 (3abc)	L.d.	L.d.	1,6 2	1,08-2,16
57 (3abc)	L.d.	L.d.	1, 35	0,63-2,07
273 (3abc)	Контроль	L.d.	2,90	2,94-3,46

Прим. L.d.- *Lymantria dispar* L.; G.m.- *Galleriae mellonella* L.

Для этого было взято три штамма 15, 112 и 116 по одному из Кара-Алминского, Урумбашского и Арстанбап-Атинского районов соответственно. На непарном шелкопряде изучали активность двух изолятов *B. thuringiensis ssp. kurstaki* (H3abc) штаммы 10 и 57, изолированных также из непарного шелкопряда в Кара-Алминском лесхозе. Критерий отбора штаммов для тестирования на вирулентность в наиболее полном продуцировании кристаллов (соотношение вегетативных клеток и спор примерно 1:1000).

Гусеницы *G. mellonella* были более восприимчивы, чем гусеницы непарного шелкопряда к изолятам пятого серовара. Наибольшей активностью для обоих видов насекомых оказался изолят 112, вирулентность которого примерно в 1,5 раза превышал эталонные культуры. Оба изолята *B. thuringiensis ssp. kurstaki* были активнее контрольного штамма в пределах 1,8-2 раза по сравнению с контролем.

Также было проведено изучение вирулентности изолята *Beauveria bassiana* на гусеницах непарного шелкопряда. Испытанный изолят №2 гриба *B. bassiana* оказался патогенным для личинок непарного шелкопряда младших возрастов, но вирулентность оказалась не высокой. Смертность инфицированных гусениц изолята №2 гриба *B. bassiana* составила в среднем 68% при титре  $5 \times 10^7$  спор/мл. Все погибшие гусеницы были типично микозные.

**3.5.4. Биологическая активность вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) в природных популяциях непарного шелкопряда.** Биологическую активность изолятов вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда из Кыргызстана изучали на примере Арстанбап-Атинской, Кара-Алминской и Урумбашской популяций в сравнении с изолятами, выделенными на территории Западной Сибири Онгудайской, Татарской, Венгерской и Чановской популяций, коллекционные культуры Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук (рис.3.5.4). Изоляты, выделенные в популяциях шелкопряда в горных лесах Кыргызстана, отличаются значительно большей вирулентностью по сравнению с изолятами, выделенными в популяциях шелкопряда на территории Западной Сибири.

Наиболее высокая вирулентность оказалась у изолята 11, выделенного от насекомых в орехово-плодовых насаждениях Урумбашского лесничества, IgЛК50 которого составил  $2,79 \pm 0,09$  ( $P < 0,05$  для всех изолятов, кроме Кара-Алминского с Урумбашским), тогда как наиболее высокая вирулентность среди изолятов, выделенных в Западной Сибири была у изолята «Чановской» популяции – IgЛК50 которого составил  $5,02 \pm 0,32$  ( $P < 0,05$  для всех изолятов, кроме Кара-Алминского с Урумбашским).

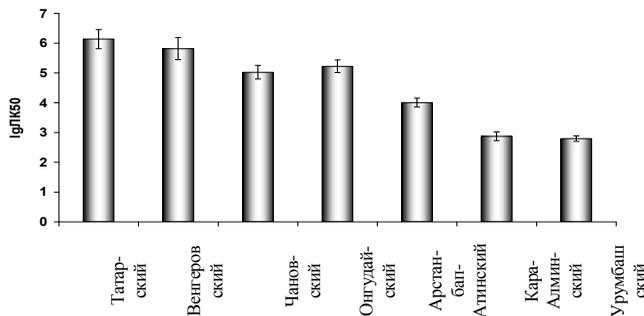


Рис.3.5.4 Биологическая активность выделенных изолятов ВЯП

Наименьшей вирулентностью среди изолятов, выделенных в Кыргызстане обладал изолят, выделенный из насекомых в насаждениях Арстанбап-Атинского лесхоза, для которого IgJLK50 составил  $4,0 \pm 0,14$  ( $P < 0,05$  для всех изолятов, кроме Кара-Алминского с Урумбашским). В то же время наименьшую вирулентность среди изолятов, выделенных в Западной Сибири, показал изолят из «татарской» популяции – IgJLK50 равен  $6,13 \pm 0,32$  ( $P < 0,05$  для всех изолятов, кроме Кара-Алминского с Урумбашским).

Исследования показали, что в естественных популяциях непарного шелкопряда на территории Западной Сибири ВЯП распространен меньше и его биологическая активность существенно ниже по сравнению с ВЯП в популяциях шелкопряда на территории Кыргызстана. Большое количество погибших от вирусной инфекции насекомых в Кыргызстане свидетельствует, что вирус ядерного полиэдроза оказывает важное влияние на динамику численности непарного шелкопряда, являясь одним из решающих факторов деградации очагов массового размножения. Поэтому применение ВЯП для искусственной регуляции численности этого опасного вредителя в Кыргызстане представляется весьма перспективным.

## ВЫВОДЫ

1.Общей причиной ослабления орехово-плодовых лесов является перманентная вспышка непарного шелкопряда, несовершенство ведения лесного хозяйства, в частности лесозащитных мероприятий против вредителей и болезней, трудности их осуществления в горных условиях. Очаги заражения непарным шелкопрядом в орехово-плодовых лесах ежегодно составляет более 20 тыс.га.

2. Уровень дефолиации кормовых растений в период проведения исследований составил в среднем 70%, а наибольшая плотность гусениц старших возрастов шелкопряда достигала 900 особей на одно дерево на равнинных участках и при крутизне склонов 11-35<sup>0</sup> и более.

3. Основными естественными регуляторами численности непарного шелкопряда в орехово-плодовых лесах Кыргызстана являются кристаллообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* (31%) и вирус ядерного полиэдроза (49-63%). Экологическая роль энтомопатогенных грибов в регуляции численности вредителя незначительная (13%).

4. В биоценозах (почва, насекомые) орехово-плодовых лесов Кыргызстана зарегистрированы следующие подвиды кристаллообразующих бактерий группы *Bacillus thuringiensis*: H1, H2, H3abc, H4ab, H5ab, H8ab, H14, H17, H31. В том числе 3 подвида Bt ( H14, H17, H31) обнаружены впервые.

5. Выявлено, что кристаллообразующие бактерии являются типичными представителями почвенной микрофлоры, наряду с такими бациллами как *B. cereus*, *B. subtilis*. Пространственная встречаемость их достигала 80% (в черно-коричневых почвах), а временная 100%.

6. Выделены и охарактеризованы высокоактивные штаммы микроорганизмов непарного шелкопряда. Среди группы кристаллообразующих бактерий *Bacillus thuringiensis* это штаммы 10, 57 (H3abc); 112, 15 (H5ab) и штамм 11 вируса ядерного полиэдроза.

7. Отобранные высоковирулентные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis* 10 и 57 (H3abc); 112, 15 (H5ab) и штамм 11 вируса ядерного полиэдроза из семейства *Vasuloviridae* оказались 1,8-2 раза активнее контрольных штаммов, используемых в коллекции Института систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук.

Полученные местные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis* и вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) рекомендованы для наработки, производства и внедрения биопрепаратов предназначенных для биологической защиты орехово-плодовых лесов от вредителей.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Установлены основные факторы смертности непарного шелкопряда, которые могут быть управляемыми: энтомопатогенные бактерии и вирус ядерного полиэдроза (ВЯП).

2. Основная ориентация в борьбе с непарным шелкопрядом должна быть направлена на использование энтомопатогенных микроорганизмов, так как выделенные местные штаммы показали в лабораторных и полупроизводственных условиях наибольшую биологическую активность (до 100%) по отношению к вредителю. Следует отметить, что выделенные местные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis*: штаммы 10 и 57 (H3abc); 112, 15 (H5ab) и штамм 11 вируса ядерного полиэдроза рекомендуются для разработки на их основе эффективных биопрепаратов для

контроля численности непарного шелкопряда. Штаммы внедрены в практику лесозащитных мероприятий по надзору и биологической борьбе с непарным шелкопрядом в поясе орехово-плодовых лесов лесорастительных зон Жалал-Абадской области (акт прилагается).

3. Обработку биопрепаратами на основе отобранных высоковирулентных штаммов следует проводить на фазе гусениц младших возрастов непарного шелкопряда.

### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Биологическая защита леса в Кыргызстане: успехи, проблемы и перспективы [Текст] / [Б.А.Токторалиев, А.А.Орозумбеков, З.А. Тешебаева и др.] // Междунар. научн. симп. Восточно-палеарктической секции Международной организации по биологической борьбе с вредными животными и растениями (ВПРС МОББ). - Будапешт-Пушкино, 2006- С. 137- 146.

2. Мониторинг непарного шелкопряда в орехово-плодовых лесах Южного Кыргызстана [Текст] / [А.А.Орозумбеков, В.И.Пономарев, З.А. Тешебаева и др.] // Изв. НАН Кырг. Респ.- 2006. Вып. 1.- С. 83-86.

3. Бахвалов С.А. Естественное проявление вирусной инфекции в популяциях непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) в Западной Сибири и Кыргызстане [Текст] / С.А.Бахвалов, А.В.Ильиных, З.А.Тешебаева // 2-ая Междунар. конф. «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия».- Бишкек, 2007. - С. 206-208.

4. Тешебаева З.А. Встречаемость *Bacillus thuringiensis* у насекомых погибших в орехово-плодовых лесах юга Кыргызстана [Текст] / З.А. Тешебаева, В.П.Ходырев // 2-ая Междунар. конф. «Современные проблемы геоэкологии и сохранение биоразнообразия». - Бишкек, 2007.- С. 235-237.

5. Распространение бактерий рода *Bacillus* в почвах и насекомых орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана [Текст] / [З.А.Тешебаева, В.П.Ходырев, Б.А.Токторалиев и др.] // Междунар. конф. «Биологическая защита растений и пути ее рационального использования».- Ташкент, 2008. - С. 218-222.

6. Распространение *Bacillus thuringiensis* в комплексе спорообразующих бактерий рода *Bacillus* Cohn в почвах орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана [Текст] / [В.П.Ходырев, З.А.Тешебаева, Б.А.Токторалиев и др.] // Сиб. экол. журн.- 2009 - №3.- С. 329-337.

7. Тешебаева З.А. Вспышки массового размножения и возбудители болезней непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) на юге Кыргызстана [Текст] / З.А.Тешебаева // Изв. ОшГУ. - 2008 - № 2 - С. 20-25.

8. Тешебаева З.А. Микобиота трупов насекомых-вредителей орехово-плодовых лесов Кыргызстана [Текст] / З.А.Тешебаева // Вестн. ОШГУ- 2009. - №3.-С. 96-100.

9. Распространение и биологическая активность вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) в природных популяциях непарного шелкопряда в Западной Сибири и юга Кыргызстана [Текст] / [С. А.Бахвалов, В. Н.Бахвалова, З.А.Тешебаева и др.] // Вестн. КНПУ им. Абая. Сер. Естеств.-географ. науки.- 2009 - 1.-С. 13-19.

10. Тешебаева З.А. Патогены непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) в лесах Кыргызстана [Текст] / З.А.Тешебаева // Вестн. КНПУ им. Абая. Сер. Естеств.-географ. науки. - 2009 - № 1. - С. 19-23.

11. Тешебаева З.А. Выделение и отбор высоковирулентных культур *Bacillus thuringiensis* и их биологические особенности в условиях орехово-плодовых лесов Кыргызстана [Текст] / З.А.Тешебаева // Изв. ОШТУ. - 2009.- № 2.-С.16-27.

12. Энтомопатогенные микроорганизмы в очагах непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) орехово-плодовых лесов юга Кыргызстана [Текст] / [ В.П.Ходырев, З.А.Тешебаева, Б.А.Токторалиев и др.] // Сиб. экол. журн. - 2010. - № 5. - С. 509-515.

13. Доминирующие виды энтомофильных анаморфных аскомицетов Западной Сибири, Приморья и Киргизии [Текст] / [ Г.П.Половинко, О.Ярославцева, З.А.Тешебаева и др.] // Сиб. экол. журн.- 2010.- № 5.- С.709-716.

14. Toktoraliev V.A. Biological forest protection in Kyrgyzstan [Текст]: Recent developments in research and application of viruses in forest health protection /В.А.Токторалиев, З.А.Тешебаева, А.А.Орозумбеков; Ed. Yu.I.Gninenko and Yong-an-Zhang.-VHILLM:Pushkino-Beijing, 2010- P.81-90.

**РЕЗЮМЕ**  
**кандидатской диссертации**  
**Тешебаевой Зулумкан Абдыманаповны**  
**на тему: “Энтомопатогенные микроорганизмы непарного шелкопряда**  
**(*Lymantria dispar* L.) в орехово-плодовых лесах Кыргызстана”,**  
**представленной на соискание ученой степени кандидата биологических**  
**наук по специальностям: 03.02.08 – экология и 03.02.04 – зоология**

**Ключевые слова:** энтомопатогенные микроорганизмы, бактерии *Bacillus thuringiensis*, вирус ядерного полиэдроза, биопрепараты.

**Объект исследования:** непарный шелкопряд, лесные насекомые и их патогены, почва орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

**Методы исследования:** Экологические, биологические, микробиологические, лесозащитные.

**Цель исследования:** Изучение энтомопатогенных микроорганизмов в популяциях непарного шелкопряда орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

**Полученные результаты и новизна:** Впервые проведено комплексное исследование по энтомопатогенным микроорганизмам непарного шелкопряда в условиях орехово-плодовых лесов Кыргызстана. Показано распространение и значимость бактерий из группы *Bacillus thuringiensis*, в структуре спорообразующих бактерий рода *Bacillus* Cohn в почвах орехово-плодовых лесов Кыргызстана. Выявлено, что они являются типичными представителями почвенной микрофлоры, наряду с такими бациллами как *B. cereus*, *B. subtilis*. Пространственная встречаемость их достигала 80% (в черно - коричневых почвах), а временная - 100%.

Отобраны высоковирулентные штаммы бактерий *Bacillus thuringiensis* (*H5ab* и *H3abc*) и вируса ядерного полиэдроза по отношению к гусеницам непарного шелкопряда. Выделено более 100 штаммов бактерий *Bt*, дана характеристика 9 подвидам *Bacillus thuringiensis*, из которых 3 подвида *Bacillus thuringiensis* впервые отмечается автором в условиях орехово-плодовых лесов Кыргызстана.

**Рекомендации по использованию:** Определена роль выделенных энтомопатогенов в снижении численности непарного шелкопряда и предложены наиболее перспективные биологические методы борьбы.

Отобранные высоковирулентные штаммы бактерий группы *Bacillus thuringiensis* (штаммы 10 и 57 (*H3abc*); 112, 15 (*H5ab*) и штамм 11 вируса ядерного полиэдроза из семейства *Vacuoviridae* оказались 1,8-2 раза активнее контрольных штаммов из коллекции института систематики и экологии животных Сибирского отделения РАН и рекомендованы для наработки и производства биопрепаратов, предназначенных для защиты орехово-плодовых лесов от вредителей.

Тешебаева Зулмкан Абдыманановнанын « Кыргызстандагы мөмө-жемиш жаңгак токойлорундагы жубайсыз жибек куртунун энтомопатогендик микроорганизмдери» деген темада 03.02.08-экология жана 03.02.04-зоология адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты илимий даражага коюлган кандидаттык диссертациясынын  
**КОРУТУНДУСУ**

**Аныктама сөздөрү:** энтомопатогендик микроорганизмдер, *Bacillus thuringiensis* бактериялары, ядролук полиэдроза вирусу, биопрепараттар.

**Изилдөөнүн объектиси:** жубайсыз жибек курт, жубайсыз жибек куртунун патогендери, Кыргызстан мөмө-жемиш жаңгак токойлорунун курт-кумурскалары, жаңгак –жемиш токойлорунун топурагы.

**Изилдөө усулдары:** Экологиялык, токойду коргоо, биологиялык жана микробиологиялык.

**Изилдөөнүн максаты:** Кыргызстандагы мөмө-жемиш жаңгак токойлорундагы жубайсыз жибек куртунун энтомопатогендик микроорганизмдерин изилдөө жана окуп үйрөнүү болуп эсептелинет.

**Алынган жыйынтыктар жана жанылыктар:** Кыргызстандагы мөмө-жемиш жаңгак токойлорунун шартында жубайсыз жибек куртунун энтомопатогендик микроорганизмдери боюнча биринчи жолу комплекстүү изилдөөсү жүргүзүлдү. Кыргызстандагы мөмө-жемиш жаңгак токойлорунун жер кыртышындагы *Bacillus Cohn* жаатындагы талаш-тартышты түзгөн бактериялардын түзүлүшүндөгү *Bacillus thuringiensis* тайпасындагы бактериялардын жайылышы көрсөтүлгөн. Алар кадимки эле *B. cereus*, *B. subtilis* бациллалары катарындагы жер кыртышынын өкүлдөрү экендиги айкындалган. Алардын аймактык кездешүүсү 80 пайызга (кара-күрөң жер кыртышында), убактылуу 100 пайызга жеткен.

*Bacillus thuringiensis* (*H5ab* жана *H3abc*) бактерияларынын жогорку вируленттик штаммы жана жубайсыз жибек куртуна байланыштуу ядролук полиэдроза вирусу далилденген. *Bacillus thuringiensis* дин 9 майда турлөрүнө мүнөздөмө берилген жана *Vt* бактериясынын 100дөн ашуун штаммы, анын ичинен *Vt* нын 3 майда түрү биринчи жолу автор тарабынан Кыргызстандын мөмө-жемиш жаңгак токойлорунан табылган.

**Колдонуу боюнча кеңештер:** жубайсыз жибек куртунун санын азайтууда көрсөтүлгөн энтомопатогендердин ролу аныкталган жана бул аталган зыянкечке каршы күрөшүүдө көбүрөөк перспективдүү усулдары сунушталган.

Тандалып алынган *Bacillus thuringiensis* (*H5ab* жана *H3abc*) тайпасындагы бактериялардын жогорку вируленттик штаммы жана ядролук полиэдроза вирусу Россиянын илимдер академиясынын Сибирдеги бөлүмүндөгү систематика жана жаныбарлардын экологиясы институтунун коллекциясындагы текшерүү штаммынан 1,8-2 эсеге активдүүрөөк болуп чыкты жана алар мөмө-жемиш жаңгак токойлорундагы зыянкечтерге каршы арналган биопрепараттарды иштеп чыгарууга багытталышы мүмкүн.

## RESUME

Teshebaeva Zulumkan Abdymanapovna

“Entomopathogenic microorganisms of Gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) in the walnut-fruit forests of Kyrgyzstan” presented for competition of a scientific degree of candidate of biological sciences on specialties:

03.02.08. – ecology and 03.02.04 – zoology

**Key words:** entomopathogenic microorganisms, bacterium of *Bacillus thuringiensis*, nucleopolyhedrosis virus (NPV), biopreparation.

**Research object:** The walnut-fruit of Kyrgyzstan, insects, *Lymantria dispar* L. and its pathogen and also excretion from soil of fungal pathogen.

**Research methods:** Microbiological, ecological and forest protection.

**Research purpose:** The purpose of the research is to study entomopathogenic microorganisms of Gypsy moth population (*Lymantria dispar* L.) in the walnut-fruit forests of Kyrgyzstan.

**Results and novelty:** The first time complex research to be carried out on entomopathogenic microorganisms of Gypsy moth (*Lymantria dispar* L.) in conditions of the walnut-fruit forests of Kyrgyzstan. Spreading of bacterium *Bacillus thuringiensis* group, in the structure of cryptogenic forming bacterium *Bacillus* Cohn genus in the soil of walnut-fruit forests was shown, revealing that they are typical representatives of soil microflora parallel such as *B. cereus*, *B. subtilis*. Their occurrence area reached 80% (in black-brown soil) and contemporary is 100%.

A high virulence of strain *Bacillus thuringiensis* (H5ab and H3 abc) and nucleopolyhedrosis virus concerning to the Gypsy moth larvae were revealed.

Characteristics for 9 subgroups of *Bacillus thuringiensis* were given and revealed more than 100 bacterium strains Bt, 3 subgroups of which were discovered by the author for the first time in the walnut-fruit forests of Kyrgyzstan.

**Application for recommendation:** Defined possible role of entomopathogenic in decreasing of the gypsy moth population and offered more prospective biological methods against this pest. Selected high virulence bacterium strains from the group of *Bacillus thuringiensis* (H3ab and H5abc), nucleopolyhedrosis virus turned out 1,8-2 times more active than the control strain from the Institute of Systematic and Animal Ecology of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences collection and will be recommended against the walnut-fruit forests' pests.

Подписано к печати 12.04.12

Формат 60x84 1/16

Объем 1,7 п.л.

Бумага офсетная.

Тираж 100

Типография “Махprint”, ул. Алма-Атинская 207

(0312) 48-31-85