

14. Coprology of *Panthera tigris altaica* and *Felis bengalensis euphilurus* from the Russian Far East / P. Gonzalez, E. Carbonell, V. Urios [et al.] // J. Parasitol. – 2007. – V. 93(4). – P. 229–231.
15. Science-based conservation of Amur tigers in Russian Far East / D. Miquelle, J. Goodrich, L. Kerley [et al.] // Tigers of the world: The science, politics, and conservation of *Panthera tigris*. R. Tilson and P. Nyhus, editors. 2nd Edition. – Elsevier Limited, Oxford, UK, 2010. – P. 399–419.
16. Konfliktnye situatsii mezhdu tigrom i chelovekom v Rossii / I.V. Seryodkin, D.M. Gudrich, D.G. Mikell [i dr.] // Amurskii tigr v Severo-Vostochnoi Azii: problemy sohraneniya v XXI veke: mat-ly Mezhdunar. nauch.-prakt. konf. (15–18 marta 2010 g.). – Vladivostok: Dal'nauka, 2010. – S. 179–189.
17. Conflicts between Amur tigers and humans in the Russian Far East / J.M. Goodrich, I.V. Seryodkin, D.G. Miquelle [et al.] // Biological Conservation. – 2011. – V. 144. – P. 584–592.
18. Capture and chemical anesthesia of Amur tigers / J.M. Goodrich, L.L. Kerley, B.O. Schleyer [et al.] // Wildlife Society Bulletin. – 2001. – V. 29. – P. 533–542.
19. Spatial structure of Amur tigers (*Panthera tigris altaica*) on Sikhote-Alin Biosphere Zapovednik / J.M. Goodrich, D.G. Miquelle, E.N. Smirnov [et al.] // Journal of Mammalogy. – 2010. – V. 91. – P. 737–748.
20. Conover W.J. Practical nonparametric statistics. – John Wiley & Sons, New York, 1980. – 493 p.
21. Akbaev M.SH., Esaulova N.V. Gel'mintozy plotoyadnykh zhivotnykh. Kurs lektsii. – M.: FGOU VPO «MGAVMiB im.K.I.Skryabina», 2004. – 87 s.
22. Uroven' vyzhivaemosti i prichiny smertnosti amurskikh tigrov v Sihoteh-Alinskom biosfernom zapovednike i na prilegayushchei territorii / Dzh.M. Gudrich, L.L. Kerli, E.N. Smirnov [i dr.] // Tigry Sihoteh-Alinskogo zapovednika: ehkologiya i sohranenie. – Vladivostok: PSP, 2005. – S. 69–75.
23. Survival rates and causes of mortality of Amur tigers on Sikhote-Alin Zapovednik / J.M. Goodrich, E.N. Smirnov, D.G. Miquelle [et al.] // Journal of Zoology. – 2008. – V. 276. – P. 323–329.
24. Munson L. Feline morbillivirus infection // Infectious diseases of wild mammals. E.S. Williams and I.K. Barker, editors. – Iowa State University Press, Ames, Iowa, 2001. – P. 59–62.
25. Williams E.S. Canine distemper // Infectious diseases of wild mammals. E.S. Williams and I.K. Barker, editors. – Iowa State University Press, Ames, Iowa, 2001. – P. 50–59.
26. Skryabin K.I., Petrov A.M. Osnovy veterinarnoi nematodologii. – M.: Kolos, 1964. – S. 498–499.
27. Mozgovoij A.A. Gel'minty domashnih i dikih svinei i vyzyvaemye imi zabolevaniya. – M.: Nauka, 1967. – 540 s.



УДК 615.7:638.15

В.А. Коноплёв, А.В. Куразеева,
Л.А. Лаврушина, И.С. Шульга

ИЗУЧЕНИЕ ИНСЕКТИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ШТАММА *BACILLUS THURINGIENSIS* RCAM 00045 ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ КОНСЕРВАЦИИ

В опытах на личинках восковой моли была испытана инсектицидная активность препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при использовании различных консервантов. Анализ полученных результатов свидетельствует, что введение в препарат дополнительных компонентов значительно снижает инсектицидный эффект. Активность препарата, высушенного в условиях вакуума, имеет наиболее оптимальный результат.

Ключевые слова: восковая моль, штамм *Bacillus thuringiensis*, личинки, инсектицидная активность.

V.A. Konoplyov, A.V. Kurazeeva,
L.A. Lavrushina, I.S. Shul'ga

STUDYING OF INSECTICIDAL ACTIVITY OF THE PREPARATION ON THE BASIS OF THE STRAIN OF *BACILLUS THURINGIENSIS* RCAM 00045 WHEN USING VARIOUS WAYS OF PRESERVATION

In experiments on larvae of a wax moth insecticidal activity of a preparation on the basis of a strain of Bacillus Thuringiensis RCAM 00045 when using various preservatives was tested. The analysis of the received results testifies that introduction to a preparation of additional components considerably reduces insecticidal effect. Activity of the preparation which is dried up in the conditions of vacuum has the most optimum result.

Key words: wax moth, strain of *Bacillus thuringiensis*, larva, insecticidal activity.

Ведение. Восковая моль (*Galleria mellonella*) распространена по всему земному шару, где есть пчелы, за исключением районов с суровым климатом. Она наносит пчеловодству огромный ущерб. Личинки восковой моли уничтожают соты, повреждают расплод, пергу, мед, а также служат разносчиками заразных заболеваний пчел. Пораженные восковой молью семьи слабеют и снижают продуктивность. Нередко личинки восковой моли проделывают ходы в сотах, повреждают расплод, в результате чего он погибает. Чаще всего моль поражает слабые семьи, а также семьи, содержащиеся на старых сотах. При сильном поражении соты могут быть заполнены паутиной и отбросами гусениц. Моль поражает также сушь и другое восковое сырье при неправильном его хранении [1].

Для борьбы с восковой молью сотрудниками отдела микробиологии ФГБНУ «ДальЗНИВИ» был предложен опытный препарат на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 в форме водной суспензии. Было установлено, что препарат не обладает токсичностью для пчел и лабораторных животных [4], но существует проблема для его широкого применения в практике, раствор препарата не стабилен при хранении.

Цель исследований. Обеспечить стабильность опытного препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при хранении.

Для достижения поставленной цели были определены следующие **задачи**: приготовить новую форму препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045, увеличить сроки его хранения, а также оценить инсектицидную активность по отношению к восковой моли.

Методика и результаты исследований. Для приготовления препарата выращивали культуру энтомопатогенного штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 на скошенном МПА при температуре 28–30°C. Затем готовили мазки, окрашивали карболовым фуксином, методом световой микроскопии определяли способность культуры к образованию белковых кристаллов. Отбирали кристаллообразующие культуры и определяли их биохимические свойства и биологическую активность. С культуры получали смыв, раствор доводили до необходимой концентрации и приступали к использованию препарата. Для решения поставленных задач мы сравнивали инсектицидную активность препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при разных сроках изготовления и температурах хранения. Для этого были созданы контрольная (интактная) и опытные группы из личинок восковой моли. Для первой опытной группы воск обработали культурой штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 в заданной концентрации в день приготовления (опыт 1). Для второй – такой же культурой, но только через одни сутки после разведения при условии хранения при комнатной температуре (опыт 2), а для третьей – через сутки после разведения, но при условии хранения в условиях бытового холодильника при температуре 4–6°C (опыт 3).

Обработанный воск скармливали личинкам большой восковой моли. Зараженные личинки переставали потреблять корм, теряли способность активно передвигаться и погибали.

При бактериологическом исследовании погибших личинок восковой моли выделяли культуру *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045.

В контрольной группе гибель личинок была незначительной, всего 6,6 %. В опытной первой группе, где была произведена обработка препаратом в день его приготовления, гибель лабораторных личинок составила 90 %, а инсектицидная активность, по Абботу, 89,3%.

Таблица 1

Инсектицидная активность препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при разных сроках и режимах хранения

Группа	Дни после заражения	Суммарное количество погибших гусениц		Инсектицидная активность по Абботу, %
		шт.	%	
Контроль	1-7	2	6,6	
Опыт 1	3-5	27	90	89,3
Опыт 2	3-7	16	53,3	50,0
Опыт 3	3-7	22	73,3	71,4

Спустя сутки инсектицидная активность препарата значительно снизилась – в 1,8 раза при условии его хранения при комнатной температуре, и в 1,2 раза при условии хранения в холодильной камере по сравнению с препаратом, примененным в день его приготовления.

Для изучения возможности консервации препарата мы были ограничены в выборе ингредиентов, так как применение химических веществ в пчеловодстве ограничено, а ряд веществ, разрешенных к применению в пчеловодстве, вызывают разрушение действующего начала изучаемого препарата.

Для получения результата о возможности консервации и улучшении свойств препарата были дополнительно созданы группы Опыт 4 и Опыт 5. Для этих групп в состав препарата мы включили следующие компоненты: 1) действующее начало – 60–70 %; 2) растворитель эндотоксина – 3–8 % едкого калия; 3) восстановитель – 1–8 % гидросульфита натрия и 4) наполнитель – до 100 %. Для четвертой группы в качестве консерванта мы выбрали глицерин, а в пятой группе – спиртовой раствор настойки прополиса (опыт 4 и опыт 5 соответственно). Полученные результаты сравнивали с контролем и результатами опытной первой группы, где инсектицидная активность была наиболее высокой. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Инсектицидная активность препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при разных способах консервации

Группа	Дни после заражения	Суммарное количество погибших гусениц		Инсектицидная активность по Абботу, %
		шт.	%	
Контроль	1-7	2	6,6	
Опыт 1	3-5	27	90	89,3
Опыт 4	3-7	14	46,6	42,8
Опыт 5	3-7	23	76,6	75,4

Изучение активности растворенного препарата при попытке его консервации показало, что глицерин как консервант мог оказать негативное влияние на жизнеспособность спор *Bacillus thuringiensis* или же ингибировать влияние дельта-эндотоксина, что выразилось в снижении инсектицидной активности по сравнению с первой опытной группой в 2,3 раза.

Консервация препарата прополисом оказала немного лучший эффект, который был меньше в 1,2 раза по сравнению с первой опытной группой и близок к результату суточного хранения препарата в условиях холодильной камеры.

В связи с недостаточной инсектицидной активностью при стабилизации препарата температурным и химическим факторами была предпринята попытка высушивания препарата. В опыте 6 к спорово-кристаллическому комплексу *Bacillus thuringiensis* мы добавляли растворы едкого калия, гидросульфит натрия и наполнитель. В седьмом опыте за основу было взято действующее начало штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 и только наполнитель (опыт 6 и опыт 7 соответственно).

Опытные препараты сушили в условиях вакуумного сушильного шкафа марки LP-402. Затем для испытания их растворяли до необходимой концентрации и, согласно методическим указаниям, обрабатывали восковое сырье и скармливали личинкам восковой моли [2, 3].

Таблица 3

Инсектицидная активность препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 при стабилизации препарата путем вакуумной сушки

Группа	Дни после заражения	Суммарное количество погибших гусениц		Инсектицидная активность по Абботу, %
		шт.	%	
Контроль	1-7	2	6,6	
Опыт 1	3-5	27	90	89,3
Опыт 6	3-7	18	60	57,2
Опыт 7	3-6	26	86,6	85,6

Инсектицидная активность высушенного в условиях вакуума препарата, состоящего из споро-во-кристаллического комплекса и наполнителя, имела в течение эксперимента наиболее оптимальный результат. Она оказалась незначительно ниже активности исходного препарата первой опытной группы всего в 1,04 раза. Несмотря на то, что в процессе вакуумной сушки инсектицидная активность препарата несколько снизилась, полученный результат мы считаем удовлетворительным.

Заключение. При изыскании способов стабилизации имеющейся в лаборатории формы препарата на основе штамма *Bacillus thuringiensis* RCAM 00045 получен вариант препарата, обладающий 85,6%-й инсектицидной активностью, для лабораторной популяции личинок восковой моли. Препарат стабилен, подлежит хранению, инсектицидная активность полученного варианта препарата отличается от исходной формы незначительно.

Литература

1. *Кашина Г.В.* Эколого-токсикологические основы системы защиты медоносных пчел от болезней и вредителей: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Красноярск, 2009. – 38 с.
2. Выделение и отбор высоковирulentных культур *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*: метод. рекомендации / *А.Г. Кольчевский* [и др.]; ВНИИ защиты растений. – Л., 1987. – 21с.
3. Методические рекомендации по применению биологических препаратов на основе энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* против вредителей сельскохозяйственных культур и древесных насаждений / *А.О. Сагитов* [и др.]; Казах. НИИ защиты и карантина растений. – Астана, 2011. – 31 с.
4. Бациллы против моли / *Н.Н. Шульга, В.А. Рябуха, И.С. Шульга* [и др.] // Пчеловодство. – 2014. – № 3. – С. 24–25.

Literatura

1. *Kashina G.V.* EHkologo-toksikologicheskie osnovy sistemy zashchity medonosnyh pchel ot boleznei i vreditel'ei: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk. – Krasnoyarsk, 2009. – 38 s.
2. Vydelenie i otbor vysokovirulentnyh kul'tur *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae*: metod. rekomendacii / *A.G. Kol'chevskii* [i dr.]; VNII zashchity rastenij. – L., 1987. – 21s.
3. Metodicheskie rekomendacii po primeneniyu biologicheskikh preparatov na osnove ehntomopatogennoi bakterii *Bacillus thuringiensis* protiv vreditel'ei sel'skohozyaistvennyh kul'tur i drevesnyh nasazhdenii / *A.O. Sagitov* [i dr.]; Kazah. NII zashchity i karantina rastenii. – Astana, 2011. – 31 s.
4. Bacilly protiv moli / *N.N. Shul'ga, V.A. Ryabuha, I.S. Shul'ga* [i dr.] // Pchelovodstvo. – 2014. – № 3. – S. 24–25.

