

BACILLUS THURINGIENSIS ȘI COMBATerea MICROBIOLOGICĂ A INSECTELOR DE IMPORTANȚA MEDICALĂ

ANA MARIA ANDREI, F. MARCU

Utilizarea microorganismelor entomopatogene și a produselor lor metabolice reprezintă o componentă cu rol important în cadrul sistemelor de combatere integrată a unor insecte de importantă medico-sanitară.

Unul dintre cele mai comun utilizate microorganisme entomopatogene, bacteria *Bacillus thuringiensis*, a făcut obiectul a numeroase cercetări în direcția dezvoltării lui ca insecticid microbiologic. Multă vreme produsele pe bază de *B. thuringiensis* s-au bazat exclusiv pe efectul larvicid al delta-endotoxinei. Ulterior, studiile privind acțiunea insecticidă a diferitelor varietăți de *B. thuringiensis* au arătat că efectul patogen al acestora este determinat, pe lângă cristalul proteic și de alți compuși sau toxine. Una dintre acestea, B-exotoxina termostabilă, cunoscută a fi în mod special toxică pentru diptere, s-a dovedit a întruni cerințele unui insecticid microbiologic pentru combaterea muștelor.

MATERIAL ȘI METODĂ

În lucrările noastre privind studiul relațiilor dinamice între creșterea bacteriană și producerea de exotoxină am folosit metoda testului biologic pe larve de *Musca domestica* (L₂), pentru avantajele aproape nelimitate pe care le prezintă: este foarte larg accesibilă și poate fi crescută cu succes în condiții de laborator în tot cursul anului, permițând utilizarea unui număr mare de indivizi în cursul experimentărilor, ceea ce dă o mai mare validitate rezultatelor obținute și are o susceptibilitate corectă la exotoxina termostabilă produsă de *B. thuringiensis*.

Un număr de 3 izolate de *B. thuringiensis* din colecția de microorganisme a I.C.P.P. au fost cultivate în mediu lichid pe bază de melasă și extract de porumb, în condiții de agitare (170 turații/minut), la 28° C. S-au luat probe pe tot parcursul ciclului bacterian, până la faza de liză completă și eliberare totală a sporilor și cristalelor. Imediat după prelevare probele au fost supuse autoclavării 20 minute la 120° C, tratament care a determinat distrugerea celulelor vegetative, precum și a sporilor și cristalelor — principii termostabile, cu acțiune insecticidă; a fost deci întreruptă dezvoltarea culturii bacteriene și implicit elaborarea de exotoxină.

Metoda de biotestare pe care am pus-o la punct presupune utilizarea unui mediu lichid pe bază de lapte-apă (1 : 1) și drojdie de bere (2%) [3]. Cu excepția variantelor martor, apa este înlocuită în diferite proporții, cu supernatant autoclavat, conținând exotoxină termostabilă — totul absorbit pe rondele perforate de hîrtie de sugativă, așezate în vase petri de plastic, acoperite cu evelină. Teste preliminare au arătat că la tulpinile luate în studiu, o concentrație de 6,25% supernatant autoclavat va surprinde cel mai bine variațiile cantității de exotoxină din mediul de cultură.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Din analiza datelor obținute (fig. 100) rezultă că la tulpinile luate în studiu elaborarea de exotoxină termostabilă începe în cursul fazei de multiplicare exponențială și continuă în faza staționară maximală. [8], ajungându-se

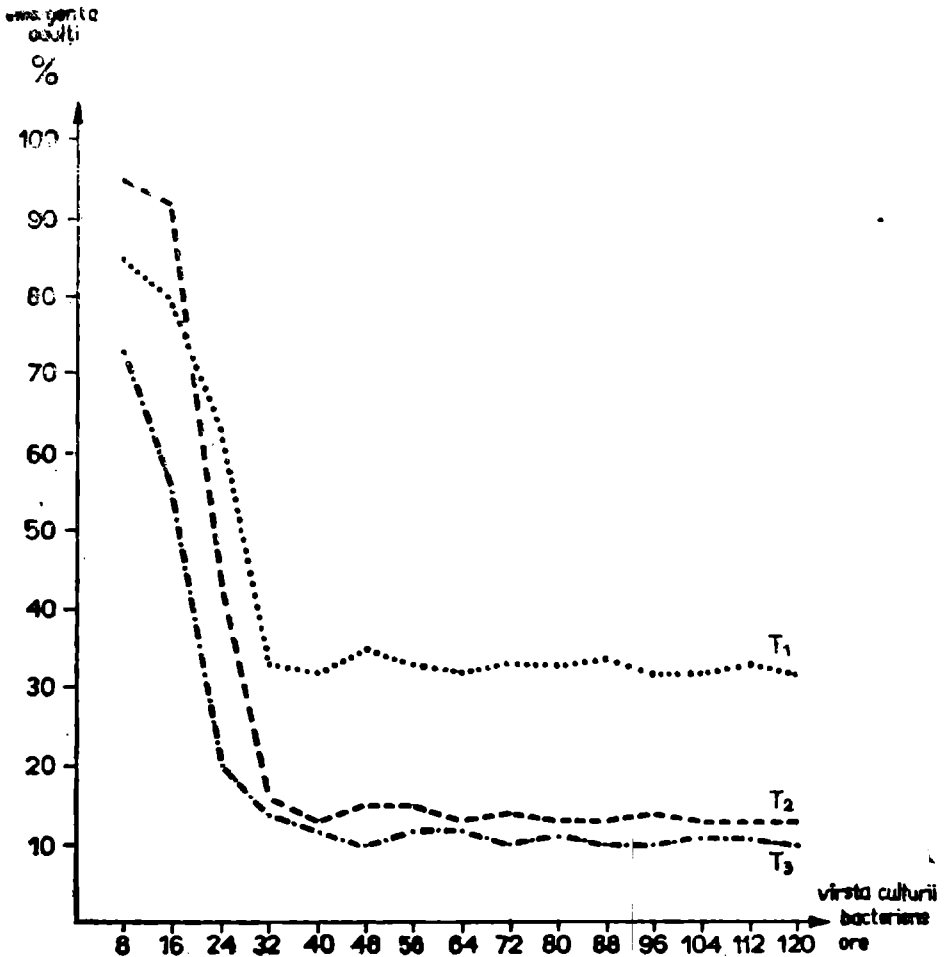


Fig. 100. Dinamica de elaborare a exotoxinei termostabile la 3 tulpini de *B. thuringiensis* (T₁, T₂, T₃), evidențiată prin procentul de emergentă al adulților de *M. domestica*, în urma tratării larvelor (L₂) cu supernatant autoclavat.

la o concentrație maximă în mediu de cultură la aproximativ 40 de ore, în condițiile de cultivare menționate.

Rezultatele noastre, în acord cu opinia predominantă [4, 5, 6, 7] nu confirmă pe cele obținute de de Barjac și colab. care, în baza testelor efectuate prin metoda dozajului, biochimic exclud prezența exotoxinei în mediul de cultură în timpul fazei exponențiale de creștere, situând începutul excreției în cursul sporulării, în cantități crescînde odată cu scurgerea timpului, faza de elaborare a exotoxinei fiind deci corelată exclusiv cu sporularea [1].

Cercetările vizînd utilizarea Beta-exotoxinei ca mijloc de combatere microbiologică a muștelor — vectori biologici ai unor boli la om, factori de stress asupra animalelor domestice la care determină scăderea producției — sînt de mare interes practic [2]. Cînd spunem aceasta luăm în considerare o serie de avantaje legate de eficacitatea sporită, producerea ușoară, fezabilitatea comercială, excluderea posibilității de apariție a rezistenței adevărate și a celei încrucișate între insecticidele chimice și Beta-exotoxina. Avînd în vedere toate aceste aspecte orientarea cercetărilor noastre în direcția caracterizării tulpinilor din colecția de *B. thuringiensis* a I.C.P.P. din punct de vedere al dinamicii de elaborare a exotoxinei termostabile a fost determinată de perspectiva obținerii și în România, la scară industrială, a unui produs microbiologic pe baza acestui metabolit. În acest sens, importanța datelor obținute de noi constă în aceea că stabilirea momentului în care producția de exotoxină este completă și a modului în care ea este legată de creșterea bacteriană, pentru tulpinile de *B. thuringiensis* din colecția I.C.P.P., reprezintă un factor important pentru planificarea producției industriale.

CONCLUZII

Pentru 3 izolate de *B. thuringiensis* producătoare de exotoxină termostabilă din colecția de microorganisme entomopatogene a I.C.P.P. am stabilit, în baza testelor biologice pe larve de *Musca domestica*, faptul că elaborarea B-exotoxinei începe în cursul fazei de multiplicare exponențială și continuă în faza staționară maximală.

BIBLIOGRAFIE

1. BARJAC H. de and LECADET M. M., 1976, — Dosag biochimique de l'exotoxine thermostable de *B. thuringiensis* d'après l'inhibition d'ARN — polyomérasas bactériennes. C. r. hebdom. Séanc. Acad. Sci. Paris 282, 2 119—2 122.
2. CARLBERG G., KIHAMIA C. M., MINJAS J., 1985 — Microbial Control of flies in latrines in Dar es Salaam with a *B. thuringiensis* (serotype 1) preparation, *Muscabac. Mircen Journal*, 1, 33—44.
3. FAUST R. M., 1974 — in *Insect Diseases*, Vol. 1, Edited by G. Cantwell, Marcel Dekker, Inc. New York.
4. HOLMBERG A., SIEVÄNEN R., 1980 — Fermentation of *B. thuringiensis* for Exotoxin Production: Process Analysis Study, *Biotechnology and Bioengineering*, vol. XXII, P. 1 707—1 724.
5. Mc CONNELL E. and RICHARDS A. G., 1959, — The production by *B. thuringiensis* Berliner of a heat-stable substance toxic for insects. *Canad. J. of Microbiol.*, 5, 161—168.
6. PANA—BERATLIEF, ZOE — 1972, Elaborarea toxinei termostabile de către diferitele varietăți de *B. thuringiensis* și acțiunea entomopatogenă a acestuia. *An. ICPP*, vol. VIII, 213—224.
7. SEBESTA K., HORSKA K., VANKOVA J., 1973 — Estimation of exotoxin production by different strains of *Bacillus thuringiensis* using P-labelled exotoxin. *Coll. Czech. Chem. Commun.* 8, 298.
8. ZARNEA G., MENCINICOPSI G., BRAGAREA ȘT., 1980 — *Bioingineria preparatelor enzimatice microbiene*, Ed. tehnică, București.

**BACILLUS THURINGIENSIS AND THE MICROBIOLOGICAL
CONTROL OF INSECTS OF MEDICAL SIGNIFICANCE****S U M M A R Y**

ANA MARIA ANDREI, F. MARCU

This paper presents the results of bioassays with *Musca domestica* L. on production dynamics of the thermostable exotoxin — a metabolite showing promise in controlling insects of medical interest — by some *Bacillus thuringiensis* strains, with some literature references to previous results obtained in this respect.