

Единъ патогененъ бацилъ за *Barbitistes amplipennis*.

Отъ Н. Стателовъ, Институтъ по ентомология, Агроном. ф-тъ, София.

Ein pathogenischer Bazillus auf den Larven der *Barbitistes amplipennis*.

Von N. Stateloff, Entomologische Institut der Agronom. Fakultät, Sofia.

Презъ м. май на 1930 година съ г-нъ Д. Иоакимовъ — доцентъ по Ентомология, предприехме една научна екскурзия изъ Поповска, Провадийска и Харманлийска околии съ цель проучване биологията на появилия се за пръвъ пжтъ масово у насъ горски вредитель скакалецъ *Barbitistes amplipennis*.

Голѣма ни бѣ обаче изненадата, когато въ Провадийска и особено въ Харманлийска околия въ землищата на селата Главанъ, Хлѣбово, Черепово и мѣстносттата „Българска поляна“ на Сакаръ-балканъ, констатирахме, че отъ безчисленитѣ ята на този вредитель, голѣма часть бѣха измрѣли, висящи по храстовитѣ клонки. Ясно бѣ за насъ, че причината на това явление е нѣкаква инфекциозна болестъ по тѣхъ, развила се до степенъ на естествена епизоотия. Интересни бѣха и съветитѣ на мѣстното население отправени къмъ насъ, да не се предприемало никаква борба съ тѣзи вредители, защото „карчана“ щѣлъ да се усили и като чума ще ги пометялъ. На нашитѣ запитвания какво разбиратъ тѣ подъ понятието „карчанъ“ ни се отговаряше, че въ нѣкои години, при масово появяване на насѣкомни неприятели, ставало „нѣщо“ та настѣпвалъ моръ всрѣдъ тѣхъ и следващата година сжщитѣ вече не се появявали. Очевидно е, че мѣстното население подъ този терминъ разбираше естествени епизооти по насѣкомитѣ, на които то не рѣдко е бивало свидетель.

Бившиятъ лесничей отъ Харманлий твърдеше предъ насъ, че и той презъ службата си е наблюдавалъ подобни явления.

На твърденията на населението и лесничеятъ не липсваше научна стойностъ. Въ чуждата ентомологична литература има вече отбелязани много случаи на естествени епизоотии, причинени отъ специфични инсекто-патогенни микроорганизми. Така напримѣръ, д-ръ Tage Ellinger и д-ръ Arthur Gibson съобщаватъ за единъ такъвъ случай презъ 1927/28 година въ Канада по ларвитѣ на *Pyrausta nubilalis* Hb.. V. Chorine, изъ изпатенитѣ му болни и умрѣли ларви на *Pyrausta* отъ гор-

нитѣ двама изследователи, е изолиралъ нѣколко патогенни микроорганизми, отъ които по важни сж: *Bacterium canadensis*, *Coccobacillus gibsoni*, *Bacterium ontarioni* и др.

Другъ случай на естествена епизоотия е констатиранъ въ областитѣ Cazadon и Candon (Франция) сжщо по ларвитѣ на *Pyrausta nubilalis* Hb., отъ които Н. I. Parker е изолиралъ микроорганизмитѣ *Bacterium from Cazadon* № 1, *Bacterium from Cazadon* № 2 и *Bacterium from Candon*.

Въ нашата ентомологична литература подобно явление съобщава Ал. К. Дрѣновски, случило се презъ 1919/20 г. въ Софийско съ скакалеца *Caloptenus italicus* L. Ето какъ го описва той: „Презъ 1919 г., когато всички трѣпнѣхме предъ угрозата да бжде унищожено всичко въ полето що бѣше засѣла съ потъ човѣшката ржка, стана нѣщо необикновено — тази напасть измираще преди да бѣше успѣла да снесе яйцата си, оставяйки труповѣтъ си да се търкалятъ по земята. Причината бѣше една болестъ по тѣхъ, предизвикана отъ гжбичката „*Empusa grilli*.“

Болнитѣ и умрѣли екземпляри на *Barbitistes*, които до-несохме отъ Харманлийско, подложихъ на изследване въ лабораторията по Ентомология при факултета. Първата целъ, която си поставихъ за разрешение, бѣ да открия и изолирамъ микроорганизма, причинителъ на смъртъта. Още при първиятъ опитъ ми се удаде да изолирамъ единъ бацилъ. При изкуствено инфектиране съ него *per os* (чрезъ устата) на здрави индивиди отъ гореказания вредителъ, тѣ умираха само следъ единъ-два дни отъ заразяването имъ. Тѣхнитѣ останки придобиваха симптоми на онѣзи, които ние намирахме умрѣли въ природата. Реизолиранитѣ отъ мъртвитѣ насѣкоми микроорганизми показваха сжщитѣ свойства на изходнитѣ, съ които инфектирахме храната. При повторна инфекция съ тѣхъ се получаваха сжщитѣ резултати. Това бѣ достатъчно за да ни увѣри, че този бацилъ е причинителъ на смъртъта. За развъждането му използвахъ общоупотрѣбяемия въ института по фитопатология 2% агаръ съ отвара отъ 200 гр. картофи и 1 литъръ вода.

Тукъ дължа да изкажа своята голѣма благодарностъ на г-нъ проф. д-ръ Д. Атанасовъ за улесненията, които ми направи съ позволенieto да си служа съ материалитѣ и уредитѣ на повѣрения му институтъ, а сжщо така и на г-нъ д-ръ Хр. Русевъ отъ Ветеринарно-Бактериологическия институтъ за съдействието, което ми указа при работата.

При по нататѣшнитѣ изследвания този микроорганизъмъ показва следнитѣ особености:

Морфология.

Подъ микроскопа микробитѣ представляватъ тѣлца, дълги $1\frac{1}{2}$ —2 микрона и дебели $\frac{1}{2}$ —1 микр.*) съ закръглени крайща, лежащи по единично, рѣдко събрани по две или въ групи. Въ висяща капка показватъ слаби собствени движения. Спори, типични капсули и дегенерационни форми микроорганизмътъ не образува до времето на наблюдението (6 месеца) върху картофенъ и бульонъ агари.

Оцвѣтяване. — Боядисва се съ всички основни анилинови бои. Не приема грамово оцвѣтяване — gram негативенъ.

Културни свойства.

Въ разнитѣ хранителни срѣди бактерията показва следнитѣ особености:

1. Въ обикновенъ бульонъ. При стайна температура (около 20—22° С.) следъ 24 часа се наблюдава умѣрено помътняване на бульона. Два-три дни по-късно по повърхността на бульона се образува една нежна ципица, която по-късно утънява и се разкъсва, пада на дъното на епруветката, но скоро се образува нова такава. Старитѣ култури се обистрятъ, като на дъното имъ се отаява единъ сиво-бѣлъ седиментъ. При разклащане на епруветката се повдига една коприноподобна кѣделка, която скоро пакъ пада на дъното. Следъ дълго стоене, културата променя цвѣта на бульона, първоначално на жълто-червенъ, следъ това въ червено-кафявъ и най-после въ карамеленъ.

2. Въ картофенъ и бульонъ агари. При стайна температура (около 20—22° С.) следъ 24 часа се образува една лентообразна покривка, по-широка въ долниятъ си край, къмъ периферията по-тънка и наждрена, а въ срѣдата по-изпъкнала, съ гладка повърхность и сиво-бѣлъ цвѣтъ. Гледана обаче срещу свѣтлината е бистра и почти прозрачна. Консистенцията ѝ е мазна, съ влаженъ видъ. Вземена съ игла не се точи на конци. При дълго стоение приема мръсно-жълтъ, гноенъ цвѣтъ, а консистенцията ѝ се сгъстява. Не образува пигментъ, не променя срѣдата, не развива никаква миризма.

3. Размивка върху бульонъ агаръ въ петри. Следъ 24 часа при стйна температура се образуватъ правилно-кръгли сиво-бѣли колонии, чиято повърхность е гладка и плоска съ слаба издигнатина въ центъра и надиплена периферия. Подъ бинокуляра показватъ финна грануляция съ мазна консистенция.

4. Бодъ въ желатинъ. При температура 20—22° С. следъ 24 часа по цѣлото протежение на бода се очертава една нишковидна колония съ размѣри: дължина до кждето е

*) Въ предварителнитѣ изследвания неволно бѣхме изпаднали въ грѣшка, понеже опредѣляхме формата само въ висяща капка.

стигнала иглата на бода, а ширина 3—4 м.м. Отгоре върху бода се образува могилестъ растежъ. Два-три дни по-късно колонията става плътна. При нѣкои случаи тя обаче се разсейва на дребни зрънца изъ масата на желатина. Така напр. въ направениятъ бодъ на 28. II. 1931 год. се разви по цѣлото му протежение една нишковидна колония, която стоя до 25. III сжщата година, а следъ това се разсѣя на зрънца по цѣлото си протежение изъ масата на желатина. Бацила не причинява втечняване на желатина.

5. Върху картофъ. Следъ 24 часа образува една нежна, твърде сочна, сиво-бѣла колония, която отначало е недоразвита, но въ продължение на два-три дни напълно завършва растежа си. Прѣсната колония е бистра, но следъ време става мжтно-желтава. Не се наблюдава никакво оцвѣтяване на картофа и никакъвъ пигментъ на водата.

6. Млѣко — не промѣня.

7. Лакмусъ-молке. Цвѣта на лакмусъ-молке се променя въ червенъ. Причината е способността на микроорганизма да образува киселина. Следъ 24 часа отъ заразяването се наблюдава една розова ивица по повърхността му, свидетелствуваща за развитието на кисела реакция. Промѣната бързо напредва надолу и следъ три-четири дни цѣлото съдържание на епруветката добива розовъ цвѣтъ.

8. Манитъ — промѣня. Тѣзи промѣни много наподобяватъ промѣнитѣ, които прави върху манита паратифозния бацилъ.

9. Бѣлткъ отъ яйце — не втечнява.

10. Агаръ съ основенъ оловенъ ацетатъ. — Нѣма характерни промѣни.

Биохимични свойства.

1. Гроздова захаръ разлага като отдѣля слабо газъ.
2. Млѣчна захаръ не разлага.
3. Barsikow I пресича.
4. Barsikow II не пресича.
5. Изпитване за индолъ по Kitasato-Salkowski. Къмъ смѣсъ отъ 1 куб. см. концентрирана сѣрна киселина и разрѣдена въ отношение 1:3 съ дестилирана вода, се прибавя 1 куб. см. KNO_3 съ концентрация 1/10,000. Смѣсъта се разклаща добре и се прибавя къмъ едноседмична булйонова култура. Характерното червено оцвѣтяване свидетелствува за присѣтствието на индолъ. При нашитѣ опити ние не констатирахме червено оцвѣтяване, следователно микроорганизма не развива такъвъ.

Физиологични свойства.

1. Терморезистентностъ. — При изпитване по установения за цѣльта методъ се установи, че тая последната се движи около 56°C .

2. Действие на замръзване. Епруветки съ добре развити колонии върху картофенъ агаръ бѣха поставени въ продължение на 2—4—6 и 8 часа при температура — 5° С. Следъ това направихъ посѣвки въ обикновенъ бульонъ поотдѣлно. При всички опити, следъ 24 часа отъ посѣвката, бульона се размѣщаше..

3. Кислородъ — Факултативенъ анаеробъ.

4. Температура — Оптималната температура за развитието му е около 30°С.. Обаче, бацила сжщо така добре се развива и при стайна температура.

5. Продължителностъ на живота. — Колония върху картофенъ агаръ, държана при стайна температура и на сѣнка, запазва своята жизнеспособностъ до 6 месеца.

Съпоставени свойствата на гореописаниятъ микроорганизъмъ не съвпадатъ съ ония на открититѣ вече такива. Ето защо ние предлагаме да му се даде име *Bacillus barbitistes* n. sp

Патогенитетъ спрямо ларвитѣ на *Barbitistes amplipennis*.

На 2 юний 1930 г. бѣха ваксинирани 24 здрави ларви отъ този вредителъ съ бацилна емулзия, произходяща отъ три дневна картофъ-агарова култура. Следъ 14 часа три ларви умрѣха. До 24-тия часъ следъ инжектирането умрѣха и останалитѣ. По технически причини, не можахъ да надзърна въ кръвта на мъртвитѣ индивиди, за да видя състоянието на кръвнитѣ цитологически елементи. Полученитѣ резултати обаче ни позволяватъ да извлечемъ ясна представа за това: атаката върху тѣхъ отъ бацила е била силно разрушителна. Дали е имало септицемия, отъ външнитѣ признаци това не можеше да се установи. Резултата, обаче, е очевиденъ — смъртностъ 100% чрезъ инжектиране.

Не такива резултати получихме обаче при инфекцията *per os* (чрезъ устата). Чрезъ напрѣскване храната съ емулзия отъ прѣсна (три-дневна) бацилна култура, при всички опити смъртността се движеше между 50—75%. Едни отъ оцѣлитѣ живи индивиди не проявяваха симптоми на разстройство, други следъ два-три дни боледуване се напълно нормализираха. Това ясно показва, че въ всѣка опитна серия известно число *Barbitistes*'u се показватъ всѣкога неподдаващи се на инфекция *per os*, т. е. тѣ притежаватъ природенъ имунитетъ спрямо този бацилъ. Азъ почнахъ тѣзи изследвания презъ 1930 г.; въ 1931 г. опититѣ бѣха продължени въ единъ по-голѣмъ мащабъ при приблизително еднакви резултати на горнитѣ.

Практически бактериологическиятъ методъ за борба съ вреднитѣ насѣкоми е трудно усжществимъ. Той, обаче, въ природата изигра своята полезна роля. Когато презъ пролѣттята на миналата 1931 год. се очакваше, че този вредителъ ще се появи въ много по-голѣми размѣри, тѣй като се знае, че

каламитетното развитие на скакалцитѣ трае обикновено две—три години подредъ, се случи тъкмо обратното — внезапно количественното му състояние спадна до нормаленъ рѣстъ. Действително, рано презъ пролѣтѣта се появиха грамаденъ брой ларвички, но два природни регуланти се намѣриха и изиграха една полезна роля. На първо мѣсто, рѣзкото колебание на температурата презъ втората половина на м. априлъ 1931 г., когато нежните ларвички бѣха вече излѣзли, унищожи голѣма частъ отъ тѣхъ. Следъ това, къмъ началото на м. май с. г. върху уцѣлелитѣ или по-късно излѣзлитѣ ларвички се разви смъртоносна болестъ, причинена отъ тукъ описания бацилъ. Тѣзи два природни регуланти спасиха земледѣлца отъ глѣми щети и много срѣдства за борба съ този вредителъ.

LITERATUR.

Chorine V., Microbes provoquant une maladie mortelle chez les chenilles des *Galleria mellonella*. Biologie, Comptes rendus — 1926, T. XCV, Paris.

Metalnikov S. and Chorine V., On the natural and acquired immunity of *Pyrausta nubilalis* Hb, Inter. Corn Borer investigations, V. II, Chicago 1929.

Chorine V., New bacteria pathogenic to the larvae of *Pyrausta nubilalis* Hb. Inter. Corn Borer investigations, V. II, Chicago 1929.

Paillot A., Contribution à l'étude des parasites microbiens des insectes. Étude de *Bacillus hoplosternus* (Paillot). Annales de l'institut pasteur T. XXXIII, Juin № 6, Paris 1919.

KURZE ZUSAMMENFASSUNG.

Im Jahre 1930 ist zum ersten Male bei uns der Insekten-Schädling *Barbitistes amplipennis* in verheerender Weise aufgetreten. Es verbreitete sich jedoch noch im Frühling desselben Jahres unter den Larven dieses Insectes eine tödliche Krankheit.

Diese Krankheit wiederholte sich während des Frühlings 1931 und verursachte in Verbindung mit sehr scharfen Temperatur-Wechseln, die der Erscheinen der Krankheit vorangingen, ein Massensterben der Larven, sodass ihre aussergewöhnliche Zahl bald einen Normalstand erreichte.

Diese aussergewöhnliche Erscheinung fesselte darart meine Aufmerksamkeit, dass ich mich alsbald mit ihrer Erforschung beschäftigte. Bei meinen Untersuchungen von kranken und toten Larven stiess ich auf einen Bazillus, dessen Eigenschaften ich ausführlich in dieser Arbeit beschrieben habe. Der Bazillus erwies sich als völlig neu und bis heute ganz unbekannt. Wegen seinen besonderen Eigenschaften beschloss ich ihn *Bazillus barbitistes* n. sp. zu benennen.
