

BAKTERIE

JERZY J. LIPA

Laboratorium Biologicznych Metod Walki IOR, Poznań

Wśród olbrzymiej ilości gatunków bakterii wyizolowanych z owadów znaczna ich część jest chorobotwórcza dla swych gospodarzy (Krieg 1960, Steinhaus 1947, 1949). Wśród tych bakterii spotykamy zarówno gatunki zarodnikujące jak i niezarodnikujące przy czym chorobotwórczość bakterii zarodnikujących dla owadów jest znacznie lepiej poznana. Niewątpliwie najciekawszą grupę zarodnikujących bakterii stanowią tzw. kryształotworzące bakterie, które znalazły najszerze zastosowanie w mikrobialnym zwalczaniu owadów (Heimpel i Angus 1960).

Krótką historia badań nad bakteriami z owadów w Polsce

Pierwsza i jedyna zresztą jak dotąd polska praca dotycząca bakterii chorobotwórczych dla owadów ukazała się przed blisko sześćdziesięciu laty. Wize (1904) badając choroby szkodników buraków stwierdził chorobę bakteryjną larw komośnika buraczanego (*Cleonus punctiventris* Germ.) i opisał nowy gatunek bakterii *Pseudomonas ucrainicus* Wize. Praca jego zawiera dokładną charakterystykę bakterii oraz jej chorobotwórczość dla komośnika oraz innych owadów.

W swym artykule przeglądowym o chorobach owadów Wize (1905) podaje, iż obserwował naturalne infekcje larw komośnika bakteriami *Bacillus tracheitis* (sive *graphitosis*) Krassilszczik oraz *B. septicus insectorum* Krassilszczik. Chorobotwórczością bakterii *B. septicus-insectorum* zajmował się w Polsce Profesor Kapuściński jednakże o ile mi wiadomo wyniki tych badań nie były publikowane a wzmiankę o nich znalazłem w artykułach Kozikowskiego (1939) i Szujeckiego (1956).

Wzmianki o chorobach bakteryjnych osnui (*Acantholyda nemoralis* Thoms.) znajdujemy w pracach Koehlera (1957) i Nunberga (1946). Obserwowali oni chorobę u znacznego procentu gąsienic i dorosłych owadów w wyniku której poważnie obniżyła się płodność samic. Koehler podaje, iż w 1937 roku próbowano rozprzestrzenić bakterie z martwych osnui

przez polewanie ściółki na terenach opanowanych przez osnuję, jednakże bez rezultatu.

Koehler i Schneider (1956) podają, iż w gąsienicach poprocha cetyniaka (*Bupalus piniarius* L.) przesłanego z Polski do Laboratorium Patologii Owadów CSAV w Czechosłowacji wyizolowano następujące bakterie: *Brevibacterium concentricum* Kern, *B. tegumenticola* (Steinhaus), *Pseudomonas desmoliticus* Gray i *P. septica* Bergey.

Bakteriozy borecznika *Diprion* sp. są wzmiankowane przez Kapuścińskiego (1952) oraz Koehlera i Schneidera (1956). Prof. Kapuściński określił bakterie jako *Bacillus* sp. lecz nie wiemy dokładnie o jaki gatunek chodziło.

Wzmianki o chorobach bakteryjnych owadów znajdujemy także w kilku innych pracach, jednakże w żadnym przypadku nie określiło przynależności bakterii nawet do rodziny.

Mgr Błońska oraz Mgr Kasprzyk z Instytutu Ochrony Roślin wraz z Dr O. Lysenko z Laboratorium Patologii Owadów z Czechosłowacji prowadziły próby nad zakażaniem larw pędraków *Melolontha* sp. bakterią *Bacillus popilliae* Dutky. Nie uzyskano jednak pozytywnych wyników przy czym niewykluczone, że kultura bakterii była za stara.

Lipa (1962a) prowadził badania polowe nad stosowaniem handlowych mikrobialnych preparatów przeciw szkodnikom na warzywach kapustnych i uzyskał świetne wyniki zwalczania *Pieris brassicae* L., *P. rapae* L., oraz *Mamestra brassicae* L. W Laboratorium Biologicznych Metod Walki IOR w Poznaniu prowadzimy szersze badania celem sporządzenia listy krajowych gatunków owadów wrażliwych na te bakterie jako podstawę do dalszych polowych doświadczeń z tą bakterią.

Jak więc widzimy znajomość bakterii z owadów w Polsce jest bardzo ograniczona i poza dawną pracą Wizego, nie opublikowano żadnych badawczych prac z dziedziny bakteriologii owadów.

Pełnego przeglądu prac nad bakteryjnymi chorobami owadów w Polsce dokonałem w niedawnej publikacji (Lipa 1963).

Stan opracowania i znajomość grupy

Steinhaus (1947) podaje, iż z około 300 gatunków bakterii związanych z owadami, większość jest komensalami lub fakultatywnymi pasożytami a tylko nieliczne są obligatoryjnymi pasożytami owadów. Krieg (1961) wymienia około 100 gatunków bakterii będących w bardziej ścisłych związkach z owadami.

Bakterie chorobotwórcze dla owadów należą do rzędu *Eubacteriales*, podrzędu *Eubacteriinae*. Większość z nich należy do sześciu rodzin: *Bacillaceae* (34 gatunków) *Enterobacteriaceae* (16 gatunków), *Achromobacte-*

riaceae (7 gatunków), Micrococcaeae (12 gatunków), Brevibacteriaceae (9 gatunków), oraz Lactobacteriaceae (6 gatunków). Liczby podane w nawiasach przedstawiają ilości gatunków z poszczególnych rodzin podanych w książce Kriega (1961). Jednakże nawet w tych cyfrach znajduje się szereg gatunków, które nie są obligatoryjnymi patogenami owadów lecz fakultatywnymi bądź komensalami.

Najlepiej poznanymi bakteriami z owadów są te gatunki, które wywołują oba typy zgnilców pszczoły. Znajomość niektórych pozostałych bakterii jest również zadowalająca np. *Bacillus thuringiensis* Berliner z szeregiem odmian lub *B. popilliae* Dutky i *B. lentimorbus* Dutky, *Cloaca cloacae* var. *acridiorum* (= *Coccobacillus acridiorum* (d'Herelle) i kilka innych.

Największą uwagę patologów owadów przyciąga rodzina *Bacillaceae* a zwłaszcza jej rodzaj *Bacillus*. Obejmuje on pałeczkowate bakterie wytwarzające endospory o długiej żywotności, a więc stanowiące dobry materiał jako składnik mikrobialnych insektycydów.

Najciekawszą grupę w aspekcie patologii owadów i ich mikrobialnego zwalczania stanowią te gatunki z rodzaju *Bacillus*, które charakteryzują się zdolnością wytwarzania w sporangium obok endospory także toksycznego dla owadów kryształu. Jest to zespół gatunków *Bacillus thuringiensis* Berliner, najbardziej znanej i kosmopolitycznej chorobotwórczej bakterii dla owadów. W literaturze naukowej spotyka się jednak sprzeczne zdania na temat nomenklatury tego gatunku. Toumanoff i Coroller (1959) uważają, iż *B. thuringiensis* jest kryształotwórczą odmianą *Bacillus cereus* Fr. et Fr., gdyż według tych autorów tworzenie kryształu nie jest dostateczną cechą dla wyróżniania nowego gatunku. Dla potwierdzenia swej opinii podkreślają, iż niektóre komórki *B. cereus* wytwarzają również kryształy. Heimpel i Angus (1958) dobrze udokumentowali swój pogląd, iż są to odrębne gatunki. Pogląd ten znalazł szerokie uznanie i w obrębie *B. thuringiensis* wyróżnia się następujące odmiany: *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*, *B. thuringiensis* var. *sotto*, *B. thuringiensis* var. *dendrolimus*, *B. thuringiensis* var. *alesti* i *B. thuringiensis* var. *euxoe*. Obok wyżej wymienionych gatunków do grupy tzw. kryształotwórczych bakterii należą także gatunki *B. entomocidus* Heimpel et Angus, *B. entomocidus* var. *subtoxicus*, oraz *B. finitimus* Heimpel et Angus.

Wszystkie powyższe gatunki charakteryzują się wytwarzaniem kryształu, który u poszczególnych gatunków jest różnego kształtu. Obserwuje się również różnice w ich chorobotwórczości dla różnych owadów.

Kryształ jest ciałem białkowym w skład którego wchodzi 17 aminokwasów. Rozpuszcza się on w alkalicznych roztworach a jest nierozpuszczalny w takich rozpuszczalnikach jak alkohol, eter, aceton itp.

Charakterystykę bakterii oraz mechanizmu jej wpływu na owady omówiłem w jednej ze swych niedawnych publikacji (Lipa 1960).

Z innych dobrze poznanych bakterii z rodziny *Bacillaceae* chorobotwórczych dla owadów szkodliwych należy wymienić *Bacillus popilliae* Dutky i *B. lentimorbus* Dutky (Dutky 1940). Obie bakterie opisane z pędraków chrząszcza *Popillia japonica* Newm., zostały dobrze poznane pod względem charakterystyki bakteriologicznej oraz wpływu na chrząszcza. Jedynym niewyjaśnionym zagadnieniem przy obydwu gatunkach są warunki ich zarodnikowania na sztucznych pożywkach. Bakterie te bowiem rosną na sztucznych pożywkach lecz nie zarodnikują.

Powyższe gatunki mają kilka odmian, które wyizolowano z innych chrząszczy. Za najciekawszy z nich można uznać *Bacillus popilliae* var. *fribourgensis* z pędraków chrabąszcza *Melolontha melolontha* L. (Wille 1956). Gatunek ten wymaga jednak znacznie bliższego poznania.

Stosunkowo nieźle znamy również inne gatunki z rodziny *Bacillaceae*, z którymi jako sporulującymi bakteriami wiążą się szczególne nadzieje w mikrobialnej metodzie.

Chociaż liczba niesporulujących bakterii znacznie przekracza ilość znanych bakterii sporulujących, to jednak nie budzą one tak żywego zainteresowania jak te poprzednie. Z punktu widzenia bakteriologicznego są one dobrze poznane gdyż dokonywano licznych rewizji systematycznych i opracowań rodzin niezarodnikujących bakterii. Słabiej natomiast są poznane jako całość z punktu widzenia patologii owadów a zwłaszcza mikrobialnej metody (Steinhaus 1960).

Ogólnie można powiedzieć, że gatunki z rodzin niezarodnikujących są co najwyżej fakultatywnymi patogenami owadów. Jednakże nawet reprezentując ten typ pasożytnictwa liczne bakterie z tej grupy wywołują śmiertelne choroby szeregu gatunków owadów. Z tego względu również i te rodziny winny znaleźć się w kręgu zainteresowań patologów owadów.

Reasumując należy stwierdzić, że bakterie z owadów nie stanowią dobrze poznanej grupy. Dodatkowych dokładnych badań wymagają gatunki uznawane za fakultatywne pasożyty ale stojące blisko grupy obligatoryjnych pasożytów. Badania te winny być zwłaszcza skoncentrowane na poznaniu warunków, w których fakultatywny pasożyt może wnikać do owada i rozmnażając się powodować jego śmierć.

Rola grupy w dynamice liczebności owadów szkodliwych i jej przydatność w mikrobialnej metodzie ochrony roślin

Jednym z najbardziej znanych przykładów ilustrujących rolę bakterii w dynamice populacji szkodliwych owadów są bakteryjne choroby szarańczy *Schistocerca* spp. D'Herelle (1911, 1912) obserwował olbrzymiej skali

epizoocję wśród tych owadów w Meksyku, która przesunęła się tutaj aż z Gwatemali. Miała ona takie rozmiary i nasilenie, iż migracja szarańczy uległa załamaniu się i inwazja szarańczy nie nastąpiła w Meksyku. Z chorych i martwych okazów szarańczy d'Herelle wyizolował małą gramujemną pałeczkowatą bakterię, którą nazwał *Coccobacillus acridiorum* (obecnie *Cloaca cloaca* var. *acridiorum* (d'Herelle)). W badaniach nad sztucznym zarażaniem szarańczy tą bakterią stwierdzono, iż jest ona silnie zjadliwa i owady szybko padają.

Steinhaus (1949) podaje, iż d'Herelle na zaproszenie władz rządów Argentyny, Kolumbii, Algierii i Tunezji prowadził mikrobialne zwalczanie szarańczy w tych państwach, jednakże wyniki były coraz mniej zadowalające, zwłaszcza uzyskiwane przez innych badaczy, aż wreszcie metoda została zaniechana. Steinhaus uważa, że kultura bakterii stosowana przy tej metodzie wskutek niewłaściwego obchodzenia się z nią straciła swą zjadliwość dla owadów, i rozprzestrzenianie jej w terenie nie przynosiło oczekiwanych rezultatów.

Jednakże wyniki uzyskane w próbach ze zwalczaniem innych owadów prowadzone w latach trzydziestych przeciw omacnicy prosowiance (*Pyrausta nubilalis* Hbm.) przy pomocy *Bacillus thuringiensis*, a zwłaszcza wspaniałe osiągnięcia Dutky'ego w mikrobialnym zwalczaniu *Popillia japonica* Newman spowodowało nawrót zainteresowania metodą mikrobialną. Stosując bowiem *Bacillus popilliae* i *B. lentimorbus* przeciw pędrakom *P. japonica* zmniejszono nasilenie szkodnika z około 470 do 44 pędraków na 1 m². Jednokrotne wprowadzenie bakterii na pole lub łąkę było skuteczne przeciw szkodnikowi przez następne lata, gdyż bakteria utrzymywała się w populacji owada oraz w glebie, a będąc rozprzestrzeniana przez *Insectivora* oraz gryzonie i chore owady przenosiła się na sąsiednie tereny.

Ostatnio też obserwujemy gwałtowny wzrost zainteresowania bakteriami owadobójczymi w związku z ukazaniem się na rynku handlowych preparatów zawierających w swym składzie *Bacillus thuringiensis* (Lipa 1960).

Powyższe fakty wskazują więc na dużą rolę bakterii w dynamice populacji szkodliwych owadów a tym samym ich dużą przydatność w mikrobialnej metodzie ochrony roślin.

Najistotniejszą bez wątpienia jednak dodatnią cechą bakterii jest możliwość ich hodowania na sztucznych pożywkach i uzyskiwania olbrzymiej ilości materiału infekcyjnego, który może być użyty w terenie jako mikrobialny insektycyd. Na przykład widziałem hodowlę *B. thuringiensis* w Bioferm Corporation w Kalifornii oraz przygotowanie preparatu. Bakterię hoduje się w płynnej pożywce w olbrzymich tankach o pojemności kilkunastu tysięcy litrów. Po zakończeniu wzrostu odwirowuje się i od-

dziela na filtrach spory oraz kryształ, następnie suszy, miesza w odpowiedniej proporcji z nośnikiem, którym może być talk, bentonit lub ziemia okrzemkowa i preparat jest gotowy.

O cenie stanu organizacyjnego badań w Polsce

O ile mi wiadomo poza nielicznymi wąskimi zagadnieniami badawczymi nad bakteriami owadów, nikt się nie zajmuje tą grupą mikroorganizmów w Polsce. Prowadzone bowiem w Laboratorium Biologicznych Metod Walki Instytutu Ochrony Roślin w Poznaniu badania nad *Bacillus thuringiensis* nie mają charakteru badań bakteriologicznych lecz czysto doświadczalnych nad wrażliwością poszczególnych gatunków owadów. Prowadziliśmy również w roku 1961 polowe doświadczenia nad skutecznością kilku preparatów mikrobialnych produkcji Bioferm Corporation oraz Nutrilite Products Inc. przeciw szkodliwym owadom (głównie bielinkom) na warzywach (Lipa 1962).

Podobny profil miały nieopublikowane jeszcze wyniki badań Błońskiej, Kasprzykównej i Lysenki nad wrażliwością pędraków *Melolontha spp.* na wstrzykiwaną im bakterię *Bacillus popilliae*.

Niewątpliwie tego typu badania należy uznać za bardzo pożądane i celowe, niemniej jednak są to badania zbyt wąskie i jednokierunkowe.

Wiadomo mi również, iż badania nad skutecznością *Bacillus thuringiensis* przeciw pewnym szkodnikom przechowalni prowadzi Docent Dr H. Sandner i Mgr K. Kmitowa w Zakładzie Ekologii PAN. Doc. Dr Z. Gołębiowska w Laboratorium Szkodników Przechowalni IOR w Poznaniu podejmuje również badania nad zagadnieniem odporności mkiłki mącznego (*Ephestia kuehniella* Zehl.) i *Plodia interpunctella* (Hbn.) na *Bacillus thuringiensis* Berliner. Natomiast Mgr B. Głowacka z Zakładu Ochrony Lasu IBL w Warszawie prowadzi badania nad wykorzystaniem *B. thuringiensis* do zwalczania owadów leśnych m. in. *Panolis flammea* Schiff.

Należałoby jednak bezwzględnie podjąć badania systematyczne i taksonomiczne nad jedną lub kilkoma omówionymi wyżej grupami bakterii przedstawiającymi przydatność dla mikrobialnej metody. Byłoby bowiem bardzo pożądane aby przynajmniej chociaż jeden bakteriolog pracował nad tymi zagadnieniami.

Jest nadzieja, iż stan ten wkrótce ulegnie zmianie na lepsze, gdyż wiadomo mi, że Docent Dr A. Drozdowicz z Katedry Mikrobiologii SGGW zamierza podjąć teoretyczne badania nad naturą kryształu spotykanego w sporangiach bakterii *B. thuringiensis*. Być może podjęte też będą w niedługim czasie badania mające na celu uzyskanie odmiany *B. thuringiensis* wykazującej toksyczność dla stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Od tych problemów jest już tylko mały krok do podjęcia szerszych badań o profilu ściśle związanym z patologią owadów.

LITERATURA

1. Dutky, S. R. 1940 — Two new spore forming bacteria causing milky diseases of Japanese beetle larvae — Journ. Agr. Res. 61:57—68.
2. Heimpel, A. M., Angus T. A. 1958 — The taxonomy of insect pathogens related to *Bacillus cereus* Fr. and Fr. Canad. J. Microbiol., 4:531—541.
3. Heimpel, A. M., Angus, T. A. 1960 — Bacterial insecticides — Bacteriological Reviews 24:266—288.
4. d'Herelle, F. 1911 — Sur une epizootie de natural bacterienne sevrissant sur les sauterelles au Mexique — Compt. Rend. Acad. Sci, Paris, 152:1413—1415.
5. d'Herelle, F. 1912 — Sur la propagation, dans la republique Argentine, de l'epizootie des sauterelles du Mexique — Compt. Rend. Acad. Sci., Paris, 154:623—625.
6. Kapuściński, S. 1952 — Prace Stacji Ochrony Lasów Górskich — Sylwan 96: Nr 1: 116—121.
7. Koehler, W. 1957 — Osnuja gwiaździsta (*Acantholyda nemoralis* Thoms.) na tle gradacji w borach Śląska — Roczn. Nauk leśn. 15:1—194.
8. Koehler, W., Schneider, Z. 1956 — Prognoza występowania szkodliwych owadów leśnych w 1956 r. — Sylwan A, 100, 5:71—96.
9. Kozikowski, A. 1939 — Stan kwestii chrabąszczowej w Polsce — Roczn. Ochr. roślin. 6: Nr 1:49—56.
10. Krieg, A. 1961 — Grundlagen der Insektenpathologie — Dr. Steinkopf. Verlag. Darmstadt, 304 pp.
11. Lipa, J. J. 1960 — Mikrobiologiczne insektycydy — Post. Nauk roln. Nr 3: 21—34.
12. Lipa, J. J. 1962 — Zwalczenie kilku szkodników kapustnych handlowymi preparatami mikrobialnymi (Biotrol 25 i Thuricide WP) zawierającymi bakterie *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* Berliner. — Biul. Inst. Ochr. Roślin, 16:235—256.
13. Lipa, J. J. 1963 — Polska analityczna bibliografia chorób owadów. Część I. Choroby i mikrobialne zwalczenie szkodliwych owadów — Pr. nauk. Inst. Ochr. Roślin V (1): (w druku).
14. Nunberg, M. 1947 — Mniszka — IBL, Seria C. Nr. 20, Kraków, 16 pp.
15. Steinhaus, E. A. 1947 — Insect Microbiology — Comstock Publ. Co., Ithaca, 763 pp.
16. Steinhaus, E. A. 1949 — Principles of Insect Pathology — McGrawHill Book Co. 757 pp.
17. Steinhaus, E. A. 1960 — Bacteria as microbial control agents — Trans. I Int. Conf. Insect Pathol. and Biol. Control, Praha, 1958. 37—50.
18. Szujewski, A. 1956 — Grzyby i bakterie jako czynniki ograniczające występowanie chrabąszczy — Sylwan, Seria B, 50 (4):72—74.
19. Toumanoff, C., Caroller, Y. 1959 — Contribution a l'etude *Bacillus cereus* Frank. et Frank. cristallophores et pathogenes pour les larves de *Lepidopteres* — Ann. Inst. Pasteur 96:680—688.
20. Wille, H. 1956 — *Bacillus fribourgensis*, n. sp. Erreger einer „milky disease“ im Engerling von *Melolontha melolontha* L. — Mitt. Schw. Ent. Ges. 29:271—282.
21. Wize, K. 1904 — *Pseudomonas ucrainicus* prątek choroby komośnika buraczanego (*Cleonus punctiventris* Germ.) Rozpr. Wydz. mat.-przyr. PAU, III, 4 (44), B:61—73.
22. Wize, K. 1905 — O chorobach owadów — Kosmos. 30:386—391.