ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
ԿԵՆԴԱՆԱԲԱՆՈՒԹՅԱՆ ԻՆՍՏԻՏՈՒՏ

ՂԱԶԱՐՅԱՆ ՆԱԻՐԱ ՓԱՅԼԱԿԻ

BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ ՄԻԶԱՏԱՍՊԱՆՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ԱՐԱԳԱԾՈՏՆԻ ՄԱՐԶԻ ԽՆՁՈՐԵՆՈՒ ԱՅԳԻՆԵՐԻ ՀՈՂԵՐԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ

Գ.00.11 «էկոլոգիա» մասնագիտությամբ կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ - 2007

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ

КАЗАРЯН НАИРА ПАЙЛАКОВНА

ВЛИЯНИЕ ЭНТОМОПАТОГЕНОВ ВИДА BACILLUS THURINGIENSIS НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПОЧВ ЯБЛОНЕВЫХ САДОВ АРАГАЦОТНСКОЙ ОБЛАСТИ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.11 – "Экология"

ЕРЕВАН – 2007

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի պետական համալսարանում

Գիտական ղեկավար՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Կ.Վ. Գրիգորյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ կենսաբանական գիտությունների դոկտոր Ս.Ա. Բալոյան

գյուղատնտեսական գիտությունների թեկնածու Ջ.Ա. Երիցյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ Հայաստանի պետական ագրարային համալսարան

Պաշտպանությունը կայանալու է 2007թ. մայիսի 10-ին, ժամը 16^{00}-ին ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության ինստիտուտում գործող ԲՈՀ-ի 036 մասնագիտական խորհրդի նիստում:
Հասցեն՝ Երևան 0014, Պ. Սևակի 7, e-mail: zool@sci.am
Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ ՀՀ ԳԱԱ Կենդանաբանության ինստիտուտի գրադարանում:
Սեղմագիրն առաքված է 2007թ. ապրիլի 10-ին:

Մասնագիտական խորհրդի գիտական քարտուղար, կենսաբանական գիտությունների թեկնածու Հ.Գ. Խաչատրյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном университете

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор К.В. Григорян

Официальные оппоненты: доктор биологических наук С.А. Балоян

кандидат сельскохозяйственных наук Дж.А. Ерицян

Ведущая организация: Государственный аграрный университет Армении

Защита диссертации состоится 10 мая 2007г. в 16^{00} часов на заседании специализированного совета ВАК-а 036 Института зоологии НАН РА.
Адрес: Ереван 0014, ул. П. Севака, 7, e-mail: zool@sci.am
С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института зоологии.
Автореферат разослан 10 апреля 2007 г.

Ученый секретарь специализированного совета, кандидат биологических наук А.Г. Хачатрян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Для защиты сельскохозяйственных культур и леса от вредителей и болезней в народном хозяйстве используют ядохимикаты, в том числе инсектициды, фунгициды и другие высокоэффективные и быстродействующие средства. Однако известно, что применение химических средств защиты растений приводит к ряду нежелательных последствий в биоценотическом, санитарно-гигиеническом аспектах, создает новые проблемы (Знаменский, 1970; Воронцов, 1978; Беляев, Ноздренко, 2004; Иванцова, 2004). Исходя из этого, поиски экологически безвредных, в частности микробиологических методов регуляции численности насекомых-фитофагов, имеют большое теоретическое и практическое значение. Особое место в связи с этим занимают бактерии вида Bacillus thuringiensis (BT), которые обладают высокой биологической эффективностью и практически безопасны для людей, теплокровных животных, рыб и полезной энтомофауны (Исмаилов и др., 2004; Сторчевая, Ульянич, 2005; Саранцева, Бобрешова, 2006).

Известно, что для производства бактериальных препаратов в промышленных условиях в основном применяются бактерии, выделенные из природных объектов, а обеспечение стабильно высокой эффективности требует постоянного обновления ассортимента используемых энтомопатогенных микроорганизмов „дикими" штаммами, обладающими споро- и кристаллообразованием и т. д. (Африкян, 1973; Машанов, 1996).

Исходя из вышеизложенного, нами были выделены высокоэффективные штаммы, которые после окончательного определения их спектра действия, могут стать основой для производства бактериальных препаратов в республике.

Одним из существенных условий, определяющих возможность применения энтомопатогенных бактерий, является определение их влияния на микроорганизмы (количественный и качественный состав) и на ферментативную активность почв. Полученные нами сведения позволяют шире использовать кристаллообразующие энтомопатогены для защиты сельскохозяйственных культур и леса.

Цель и задачи исследований. Целью диссертационной работы являлось изучение энтомопатогенных свойств кристаллообразующих штаммов, выделенных нами их трупов гусениц насекомых-вредителей, и выяснение влияния бактериальных инсектицидов на биологическую активность почв яблоневых садов после их интродукции.

В задачу исследований входило:

- выделение из мертвых гусениц насекомых-вредителей энтомопатогенных кристаллообразующих бактерий;

- выявление морфолого-биохимических особенностей изолятов-энтомопатогенов;

- оценка биологической эффективности выделенных штаммов против различных возрастов гусениц горного кольчатого шелкопряда и златогузки;

- определение периода сохраняемости энтомопатогенных бактерий на листьях яблони и в почвах яблоневых садов после интродукции кристаллообразующих бацилл;

- установление влияния бактериальных инсектицидов на микрофлору и ферментативную активность почв после опрыскивания.

Научная новизна работы. В результате проведенных опытов и наблюдений нами впервые в условиях Армении:

- выделены из мертвых гусениц озимой совки и яблоневой моли энтомопатогенные кристаллообразующие бактерии вида Bacillus thuringiensis и изучены их морфолого-биохимические особенности;

- определена биологическая эффективность изолятов BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против гусениц златогузки и горного кольчатого шелкопряда;

- выявлена способность вторичного инфицирования BT(NAR)-3, BT(NAR)-7 и лепидоцида в популяциях златогузки;

- изучены сохраняемость и динамика численности энтомопатогенных бактерий BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, BT subsp. thuringiensis, BT subsp. kurstaki на листьях яблони сорта Айдоред, а также в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов;

- установлены сезонная динамика и качественный состав микрофлоры (по месяцам), а также ферментативная активность почв яблоневых садов после интродукции энтомопатогенов.

Практическая ценность работы. В результате микробиологических анализов, в условиях Армении, из трупов насекомых-фитофагов выделены два штамма, проявившие высокую биологическую эффективность против гусениц златогузки и горного кольчатого шелкопряда.

Отсутствие отрицательного воздействия культуральной жидкости (КЖ) BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7, а также коммерческих бактериальных препаратов лепидоцида и БТБ на микрофлору и ферментативную активность светло-каштановых и бурых полупустынных почв дает возможность широкого использования отмеченных инсектицидов против вредных насекомых-фитофагов яблоневых садов с указанными подтипами почв.

Апробация работы. Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на кафедре экологии и охраны природы биологического факультета ЕГУ (2005-2006 гг.)

Публикации. По результатам исследований опубликовано 5 научных работ.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 128 страницах компьютерного набора. Состоит из введения, 8 глав, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 226 наименований (из них 223 иностранных автора), 31 таблицы, 15 рисунков и приложения, включающего справку от руководства РЦСРЦХ Арагацотнской области и 2 фото.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Приводится систематика энтомопатогенных бактерий, описание кристаллофоров и их токсических веществ (σ-эндотоксин, α-, β-, γ-экзотоксины), механизм действия токсических веществ на гусениц восприимчивых насекомых и места обитания в природе.

Представлены классификация ферментов, сведения о почвенных ферментах, об их источниках, причинах иммобилизации ферментов в почве, влиянии условий почвенной среды на активность ферментов и об использовании ферментативной активности в качестве показателя плодородия почвы.

Дана краткая характеристика светло-каштановых и бурых полупустынных почв яблоневых садов (содержание гумуса, общего азота, карбонатов в водных вытяжках, механический состав, количество доступных питательных элементов), а также климата в зоне распространения указанных почв.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в 2003-2006 гг.: лабораторные - в ЕГУ, НИИ Биотехнологии и Научном центре земледелия и защиты растений, полевые - в Аштаракском, Оганаванском и Сасуникском яблоневых садах Арагацотнской области.

Объектами исследований явились энтомопатогенные кристаллообразующие бактерии BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, выделенные нами из трупов

гусениц озимой совки (Agrotis segetum Schiff.) и яблоневой моли (Hiponomeuta malinellus Zell.); бактериальные препараты БТБ (БА 1500 ЕА/г) и лепидоцид (БА 3000 ЕА/г); светло-каштановые и бурые полупустынные почвы яблоневых садов; яблони сорта Айдоред; насекомые-фитофаги - златогузка (Euproctis chrysorrhoea L.) и горный кольчатый шелкопряд (Malacosoma parallela Stgr.).

Поиск новых штаммов Bacillus thuringiensis проводили в природных популяциях насекомых-вредителей в Армении по методике А.А. Евлаховой, О.И. Швецовой (1953) и по руководству ,,Практикум по микробиологии" (1976).

Морфолого-биохимические характеристики выделенных бактериальных энтомопатогенов проводили по А.С. Лабинской (1963), А.Г. Родиной (1965) и по руководству ,,Практикум по микробиологии" (1976).

Окраску кристаллов, спор и вегетативных клеток энтомопатогенных штаммов ВТ определяли по методике Г.М. Иванова и А.Б. Гукасяна (1966), а размеры клеток - окулярным микрометром.

Энтомопатогенные кристаллофоры из трупов гусениц и куколок златогузки при вторичном инфицировании выделяли по методикам Э.А. Штейнхауза (1950), А.А. Евлаховой и О.И. Швецовой (1953).

Биологическая эффективность бактериальных инсектицидов против различных возрастов гусениц златогузки и горного кольчатого шелкопряда определялась по общепринятой методике (,,Методики испытаний биопрепаратов" 1965; ,,Методические указания по испытанию биопрепаратов для защиты растений от вредителей, болезней и сорняков", 1973).

В полевых деляночных опытах листья модельных яблонь инфицировали культуральной жидкостью штаммов и водной суспензией испытуемого препарата (БТБ, лепидоцид) с помощью ранцевого опрыскивателя (Ozdesan, АО-2). Расход рабочей жидкости на каждое дерево составлял 2-4 л в зависимости от величины кроны. Контролем служили гусеницы на ветвях, обработанных водой.

Титр культуральной водной суспензии составлял 3^8-6^8 спор/мл.

В производственных условиях опрыскивание проводили тракторным опрыскивателем марки ОВТ-1. Расход рабочей жидкости составлял 1000 л/га. Контролем служили фитофаги на неинфицированных участках.

При определении численности аммонифицирующих бактерий использован метод почвенных разведений с высевом на твердых питательных средах: неспоровые аммонифицирующие бактерии учитывались на МПА, спороносные бактерии - на смеси из равных объемов МПА и СА (Родина, 1965).

Результаты двухгодичных исследований показали (рис.1), что биологическая эффективность испытуемых инсектицидов повышалась по дням учета, достигая своего максимального значения (89,6-94%) на 10-ый день после инфицирования.

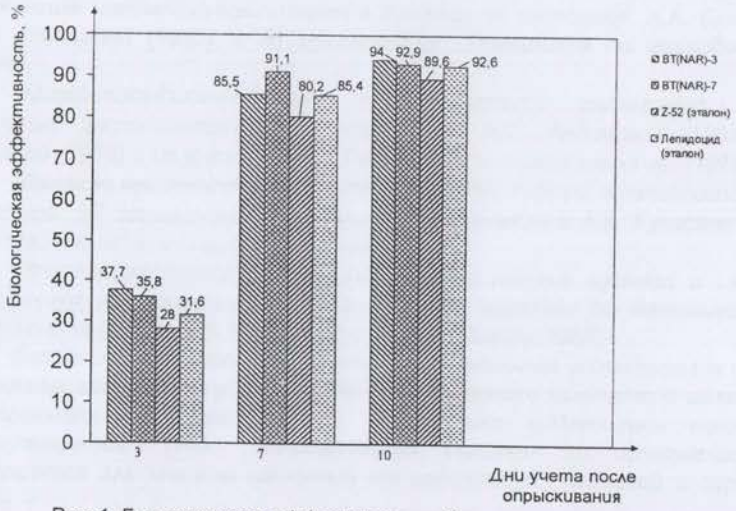

Рис. 1. Биологическая эффективность бактериальных инсектицидов против гусениц горного кольчатого шелкопряда I-II возрастов в производственных условиях (Аштарак, 2004-2005 гг.)

Разница в биологической эффективности между опытными (BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7) и эталонным (Z-52) вариантами недостоверна, поскольку расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента (1,301 и 1,852) меньше $t_{кр.}$ Стьюдента табличного значения (3,182) при уровне значимости $P_{0,95}$ и n=3.

Результаты лабораторных и деляночных опытов показали, что штаммы BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против гусениц златогузки I-III возрастов эффективнее эталона Z-52, максимальную же биологическую эффективность они проявляли на 10-ый день после инфицирования: 92,5-95% - в лабораторных и 91,8-94,4% - в деляночных опытах.

Испытание культуральной жидкости BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против гусениц златогузки III-IV возрастов в производственных условиях проводили

в мае 2004-2005 годов. Эталонами служили Z-52 и лепидоцид, контролем – гусеницы на неинфицированном участке.

Опыты проводили на 1,5 га (по 0,3 га в каждом варианте).

Результаты производственных опытов показали (рис. 2), что бактериальные инсектициды BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против гусениц фитофага проявили высокую биологическую эффективность по сравнению с эталонами Z-52 и лепидоцидом: максимальную на 10-ый день после опрыскивания, составлявшую, соответственно, 92 и 92,4%.

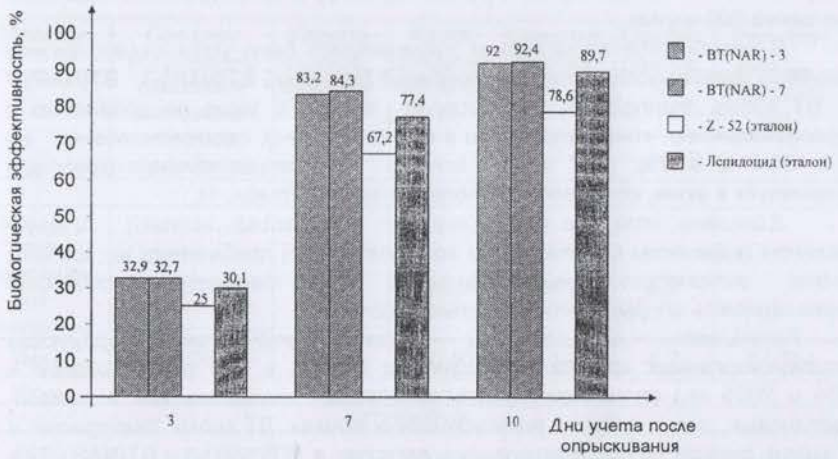

Рис. 2. Биологическая эффективность бактериальных инсектицидов против гусениц златогузки III-IV возрастов в производственных условиях (Оганаван, 2004-2005 гг.)

Экономическими расчетами установлено, что в вариантах BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, лепидоцида и Z-52 чистый доход из расчета на 1 га составил, соответственно, 2981500, 3236500, 2148500 и 1361500 драмов.

Полученные нами результаты подтверждают, что гусеницы II-IV возрастов златогузки существенно не восприимчивы к воздействию вторичного инфицирования (гибель здоровых особей от погибших гусениц-бациллоносителей) как в обычных лабораторных, так и в условиях с высокой влажностью воздуха (80-90%).

ГЛАВА 4. СОХРАНЯЕМОСТЬ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ КРИСТАЛЛО-ОБРАЗУЮЩИХ БАКТЕРИЙ НА ЯБЛОНЯХ, В СВЕТЛО-КАШТАНОВЫХ И БУРЫХ ПОЛУПУСТЫННЫХ ПОЧВАХ ПОСЛЕ ОПРЫСКИВАНИЯ

Нами впервые в условиях Армении изучена сохраняемость энтомопатогенных кристаллообразующих бактерий BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7, BT subsp. thuringiensis и BT subsp. kurstaki на листьях яблони сорта Айдоред, а также в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов после опрыскивания.

Опрыскивание яблоневых садов проводили в мае 2004 и 2005 годов. Титр жизнеспособных спор испытуемых культур в культуральной жидкости - не менее 300 млн/мл.

В результате проведенных исследований было установлено резкое снижение численности энтомопатогенных бактерий BT(NAR)-3, BT(NAR)-7 и BT subsp. thuringiensis на листьях яблони в июне по сравнению с первоначальными концентрациями в мае (контроль), соответственно, на 68,7, 53,4 и 91,7%. BT subsp. kurstaki с листьев яблони перестали выделяться в июне, остальные патогены - в июле (табл. 1).

Доказано, что при одно- (вариант с BT subsp. kurstaki) и двухмесячном (варианты с остальными возбудителями) пребывании на листьях яблони энтомопатогенные бактерии не теряют способности синтезировать споры и энтомоцидные кристаллы.

Результаты исследований показали, что после интродукции энтомопатогенных кристаллообразующих бацилл в мае (опрыскивание в 2004 и 2005 гг.) их численность в дальнейшем снижалась как в светло-каштановых, так и в бурых полупустынных почвах: BT subsp. thuringiensis и BT subsp. kurstaki не обнаруживались в августе, а BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 - в сентябре. Следует отметить, что указанное снижение в обоих подтипах почв происходило с одинаковой закономерностью. Результаты опытов 2004 г. представлены в таблице 2.

Математические анализы (с помощью $t_{кр.}$ Стьюдента) подтвердили, что существенное снижение численности энтомопатогенных бацилл в бурых полупустынных почвах происходит спустя месяц, в светло-каштановых почвах в вариантах с BT subsp. thuringiensis и BT subsp. kurstaki - через месяц, а в вариантах с BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 - спустя два месяца после их интродукции (табл. 2).

При определении сохраняемости энтомопатогенных бацилл на листьях яблони и в почвах ошибка опыта в двухгодичных исследованиях варьировала в пределах от 2,0 до 5,7%.

Таким образом, установлено, что инсектицидные штаммы сохраняются на листьях яблони не более двух месяцев, BT subsp. kurstaki и BT subsp. thuringiensis в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов - в течение трех, а BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 - четырех месяцев после опрыскивания.

Таблица1

Данные статистической обработки результатов опытов по определению сохраняемости энтомопатогенных кристаллообразующих бактерий на листьях яблони (Оганаван, 2004 г.)

Месяцы	Среднее количество выживших энтомопатогенов, млн/г почвы	Квадратичное отклонение	Коэффициент вариации, %	Средняя ошибка	Ошибка опыта, %	Расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента
BT(NAR)-3						
Май (в день опрыскивания-контроль)	12,16	1,007	8,28	0,450	3,7	
Июнь	4,08	0,431	10,56	0,193	4,7	14,754
Июль	Кристаллофоры не выделялись					
BT(NAR)-7						
Май (контроль)	9,32	0,845	9,07	0,378	4,0	
Июнь	4,32	0,412	9,53	0,184	4,3	10,637
Июль	Кристаллофоры не выделялись					
BT subsp. kurstaki (основа лепидоцида)						
Май (контроль)	10,44	0,463	4,44	0,207	2,0	
Июнь	Кристаллофоры не выделялись					
BT subsp. thuringiensis (основа БТБ)						
Май (контроль)	11,24	1,023	9,10	0,458	4,1	
Июнь	1,00	0,109	10,88	0,049	4,9	19,910
Июль	Кристаллофоры не выделялись					

Таблица 2

Данные статистической обработки результатов опытов по определению сохраняемости энтомопатогенных кристаллообразующих бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов после инфицирования (Оганаван и Сасуник, 2004 г.)

Месяцы	BT (NAR)-3	Расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента	BT (NAR)-7	Расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента	BT subsp. kurstaki	Расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента	BT subsp. thuringiensis	Расчетный $t_{кр.}$ Стьюдента
Май (контроль, в день интродукции)	29,16* / 25,76**		31,64 / 28,16		26,24 / 30,96		27,00 / 29,80	
Июнь	24,92 / 20,60	2,266 / 3,425	27,88 / 21,96	2,080 / 3,902	16,60 / 18,52	6,954 / 8,217	11,20 / 15,48	13,879 / 7,813
Июль	16,36 / 12,64	7,099 / 9,188	16,00 / 12,64	10,872 / 10,794	5,84 / 5,88	15,363 / 17,752	2,90 / 1,26	21,990 / 16,925
Август	5,84 / 4,38	13,437 / 15,843	7,9 / 4,4	18,435 / 18,540	Кристаллофоры не выделялись			
Сентябрь	Кристаллофоры не выделялись							

* Численность энтомопатогенных бактерий в светло-каштановых почвах;

** То же в бурых полупустынных почвах.

ГЛАВА 5. ЧИСЛЕННОСТЬ АММОНИФИЦИРУЮЩИХ БАКТЕРИЙ В СВЕТЛО - КАШТАНОВЫХ И БУРЫХ ПОЛУПУСТЫННЫХ ПОЧВАХ ЯБЛОНЕВЫХ САДОВ ПОСЛЕ ИНТРОДУКЦИИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ КРИСТАЛЛООБРАЗУЮЩИХ БАЦИЛЛ

Аммонификация играет исключительно важную роль в почве, так как определяет ее плодородие, переводя органический азот в усвояемую для растений форму.

Учитывая результаты наших опытов, показавших, что интродуцированные в светло-каштановые и бурые полупустынные почвы

яблоневых садов энтомопатогенные бациллы вида BT сохраняются от 3 до 4 месяцев, нами была поставлена задача изучить в обоих подтипах почв численность аммонифицирующих бактерий (не образующих спор и спорообразующих) после интродукции в них энтомопатогенных кристаллообразующих бацилл.

Работа выполнена в мае-августе 2004-2005 гг.

Нами установлено, что численность неспоровых аммонифицирующих бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов в период вегетации колеблется: начиная с мая нарастает, достигая своего максимума в июне (в среднем, соответственно, 13,044 и 10,464 млн/г почвы), затем в последующие месяцы снижается.

Среди неспоровых аммонификаторов абсолютное большинство составляли Pseudomonas fluorescens и Ps. caudata.

В процессе аммонификации принимают участие также споровые бактерии, которые осуществляют глубокую минерализацию трудноусвояемых форм органических веществ в почве (Чернобровина, 1969).

Результаты исследований показали, что численность споровых аммонификаторов возрастает с мая по август. Указанная закономерность наблюдалась как в светло-каштановых (в среднем от 1,615 до 4,672 млн/г почвы), так и в бурых полупустынных почвах (от 1,091 до 3,008 млн/г почвы). Полагаем, что в обоих типах почв имелось достаточное количество сложного субстрата, содержащего азотистые соединения (смеси аминокислот) для успешного развития аммонифицирующих споровых бактерий.

Из споровых бактерий в процессе аммонификации принимали участие Bacillus subtilis, Bac. mycoides, Bac. megaterium и Bac. mesentericus.

Качественный состав аммонификаторов неинфицированных и инфицированных почв яблоневых садов был идентичен.

Математические анализы подтвердили, что различия в численности аммонифицирующих неспоровых, а также споровых бактерий между неинфицированными (контроль) и обработанными кристаллофорами участками недостоверны в обоих подтипах почв, так как расчетные $t_{кр.}$ Стьюдента (0,336 - 2,547) во всех случаях были меньше $t_{кр.}$ Стьюдента табличного значения (2,571) при $P_{0,95}$ и пятикратной повторности. Следовательно, можно утверждать, что интродуцированные в агроценоз бактериальные инсектициды не изменяют численность аммонифицирующих неспоровых и споровых бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов в течение вегетации.

ГЛАВА 6. ЧИСЛЕННОСТЬ ЦЕЛЛЮЛОЗОРАЗРУШАЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ И АКТИВНОСТЬ ЦЕЛЛЮЛАЗЫ В СВЕТЛО-КАШТАНОВЫХ И БУРЫХ ПОЛУПУСТЫННЫХ ПОЧВАХ ЯБЛОНЕВЫХ САДОВ ПОСЛЕ ИНТРОДУКЦИИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ БАЦИЛЛ

Целлюлоза - основной структурный материал стенок растений, 15-60% сухого вещества которых приходится на ее долю (Аникиев, Лукомская, 1977). Отмершие части растений попадают в почву и там подвергаются разрушению. В.И. Гауэрт и др. (1977) отмечают, что процессы разложения целлюлозы, в целом, отражают условия почвообразования, интенсивность протекания биохимических процессов, уровень плодородия и биологической активности почвы.

Нами исследованы численность и видовой состав целлюлозоразрушающих микроорганизмов, а также активность целлюлазы в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов после интродукции в них бактериальных инсектицидов различных подвидов BT.

Опыты проводились в 2004 году.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в указанных подтипах почв в разложении клетчатки в аэробных условиях участвуют бактерии, актиномицеты и микроскопические грибы. В светло-каштановых почвах сравнительно высокую численность с мая по август проявляли актиномицеты (в среднем 247,1 тыс/г почвы), в бурых полупустынных почвах - бактерии (в те же сроки наблюдения - в среднем 140,8 тыс/г почвы). Среди целлюлолитических микроорганизмов в светло-каштановых почвах грибы по численности занимают промежуточное положение (в среднем 172,4 тыс/г почвы), в бурых полупустынных почвах их количество наименьшее (в среднем 22,3 тыс/г почвы) в течение всего исследуемого периода.

Математическими расчетами установлено, что после интродукции бактериальных инсектицидов BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7, лепидоцида и БТБ в светло-каштановые и бурые полупустынные почвы, они по сравнению с контрольными вариантами не оказывают влияния на численность целлюлозоразрушающих бактерий, актиномицетов и грибов: расчетные $t_{кр.}$ Стьюдента (0–2,531) во всех случаях были меньше $t_{кр.}$ Стьюдента табличного значения (2,571).

Не изменялся также и качественный состав целлюлолитических микроорганизмов: из инфицированных и неинфицированных бактериальными инсектицидами почв выделялись одинаковые по видовому составу микроорганизмы.

Нами выявлено, что Cellvibrio flavescens, Actinomyces albus и Penicillium встречаются в обоих подтипах почв. Качественные составы остальных микроорганизмов в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах различались.

Степень разложения льняной ткани в изучаемых почвах с мая по август подвергалась изменениям. Нами выявлено, что разложение льняной ткани в светло-каштановых почвах протекало интенсивнее, чем в бурых полупустынных. В период вегетации в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах клетчатка разрушалась в сумме, соответственно, на 59,0 и 46,9%.

Математическими расчетами установлено, что различия в средних показателях целлюлолитической активности между контрольными и обработанными бактериальными инсектицидами BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7, лепидоцидом и БТБ вариантами в изучаемых двух подтипах почв недостоверны, так как расчетные $t_{кр.}$ Стьюдента (0,150-3,072) были меньше $t_{кр.}$ Стьюдента табличного значения (3,182) при $P_{0,95}$ и n=3.

ГЛАВА 7. ИНВЕРТАЗНАЯ И УРЕАЗНАЯ АКТИВНОСТИ СВЕТЛО-КАШТАНОВЫХ И БУРЫХ ПОЛУПУСТЫННЫХ ПОЧВ ЯБЛОНЕВЫХ САДОВ ПОСЛЕ ИНТРОДУКЦИИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ

По данным А.Ш. Галстяна (1968, 1974), В.Ф. Купревича (1974), Ф.Х. Хазиева (1972, 1982) и др., инвертаза и уреаза характеризуют биологическую активность и плодородие почвы.

Активность инвертазы определялась нами количественным учетом восстанавливающих сахаров по Бертрану.

Из рисунка 3 следует, что в светло-каштановых почвах, в испытанных вариантах показатели инвертазы в мае, июне, июле и августе варьировали в пределах, соответственно, 16,9-21,2, 18,1-23,7, 12,5-14,7 и 9,7-12,8 мг глюкозы на 1 г почвы через 24 часа.

Инвертазная активность подвергается динамическому колебанию также и в бурых полупустынных почвах: ферментативная активность почвы повышалась с мая (ср. 11,72 мг глюкозы/г почвы) по июнь (ср. 15,52 мг глюкозы/г почвы), затем понижалась в июле (ср. 10,46 мг глюкозы/г почвы) и августе (ср. 9,5 мг глюкозы/г почвы).

Понижение биологической активности почв во второй половине лета Я.П. Худяков (1958), Т.Г. Мирчинк, И.В. Асеева (1959), А.Ш. Галстян (1974) и другие объясняют тем, что почвенные микроорганизмы продуцируют токсические вещества, которые подавляют жизнедеятельность микроорганизмов, а также ферментов.

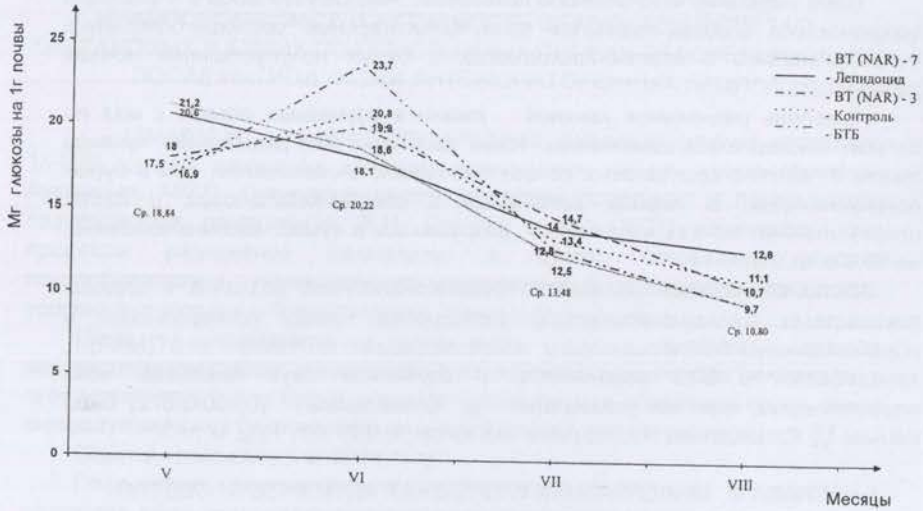

Рис. 3. Инвертазная активность светло-каштановых почв после интродукции энтомопатогенов

Нами определялась также уреазная активность интродуцированных и неинтродуцированных бактериальными инсектицидами почв с мая по август.

Установлено, что активность уреазы в вариантах с BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, лепидоцидом, БТБ и в контроле в период вегетации в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах в среднем варьировала в пределах, соответственно, от 1,774 до 3,713 и от 1,999 до 2,836 мг NH_3 на 1 г почвы через 24 часа.

Из полученных данных следует, что уреазная активность сравнительно низка в бурых полупустынных почвах.

Согласно данным проведенных нами математических расчетов, интродуцированные и неинтродуцированные светло-каштановые почвы идентичны как по активности инвертазы, так и уреазы. Аналогичная закономерность свойственна и бурым полупустынным почвам (расч. $t_{кр.}$ Ст. 0,201-2,398<2,571 $t_{кр.}$ Ст. табл. знач., при $P_{0,95}$ и n=5) (табл. 3).

Таблица 3

Расчетные значения $t_{кр.}$ Стьюдента при сравнении средних показателей ферментативной активности инфицированных и неинфицированных почв яблоневых садов (2004 г.)

Варианты	Светло-каштановые почвы				Бурые полупустынные почвы			
	Месяцы							
	V	VI	VII	VIII	V	VI	VII	VIII
Инвертаза								
Контроль (неинфицированный)								
BT(NAR)-3	0,493	0,769	1,441	0,648	1,151	1,872	1,498	0,745
BT(NAR)-7	2,143	1,751	1,396	2,090	0,201	0,675	2,225	0,999
Лепидоцид	2,122	1,868	0,813	1,784	0,946	1,210	0,859	0,929
БТБ	0,489	2,286	0,933	2,398	1,404	0,504	1,307	1,380
Уреаза								
Контроль (неинфицированный)								
BT(NAR)-3	0,425	0,447	0,667	1,211	1,408	1,265	1,001	1,265
BT(NAR)-7	0,439	0,365	1,265	0,570	0,633	0,579	1,502	0,633
Лепидоцид	1,032	0,580	0,580	0,570	1,899	1,265	0,534	2,113
БТБ	1,017	1,001	0,633	1,211	0,633	0,633	1,001	2,113

ГЛАВА 8. МОРФОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ BT(NAR)-3 И BT(NAR)-7

При изучении морфолого-биохимических особенностей выделенных нами штаммов BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 выяснилось, что они по отдельным показателям имеют и сходство, и различия.

7. Энтомопатогенные бациллы различных подвидов после интродукции не оказывают отрицательного влияния на численность целлюлолитических микроорганизмов и целлюлазную активность светло-каштановых и бурых полупустынных почв яблоневых садов

8. Интродукция бактериальных инсектицидов BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, лепидоцида и БТБ в агроценоз не оказывает отрицательного влияния на активность ферментов (инвертазы, уреазы) светло-каштановых и бурых полупустынных почв, что позволяет широко использовать названные бактериальные инсектициды в борьбе с чешуекрылыми фитофагами.

9. Экономическими расчетами установлено, что в вариантах BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, лепидоцида и Z-52 чистый доход из расчета на 1 га составил, соответственно, 2981500, 3236500, 2148500 и 1361500 драмов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Для достижения высоких результатов биологической эффективности против гусениц златогузки и горного кольчатого шелкопряда в яблоневых садах BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 необходимо применять с титром культуральной жидкости 600 млн/мл (из расчета 1000 л/га).

В агроценозах против насекомых-фитофагов шире применять КЖ BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7, а также коммерческие бактериальные препараты лепидоцид и БТБ, поскольку после их интродукции они не оказывают отрицательного воздействия на плодородие почв яблоневых садов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Казарян Н.П., Григорян К.В., Саркисян М.А. Испытание кристалло-образующих штаммов BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против гусениц горного кольчатого шелкопряда младших возрастов // Материалы XIV международного симпозиума „Нетрадиционное растениеводство. Экология. Экология и здоровье" - 2-й съезд селекционеров, Симферополь, 2005, С. 668-669.
2. Ղազարյան Ն.Փ. Նախնական տվյալներ ոսկետուտի թրթուրների դեմ՝ BT(NAR)-3 և BT(NAR)-7 միջատասպան բակտերիալ շտամների փորձարկման վերաբերյալ // Ագրոգիտություն, Երևան, N 9-10, 2005, էջ 424-426.

3. Казарян Н.П. Биологическая эффективность бактериальных штаммов BT(NAR)-3 и BT(NAR)-7 против горного кольчатого шелкопряда в яблоневых садах Армении // Կրթությունը և գիտությունը Արցախում, Ереван, N 5-6, 2005, С. 98-101.
4. Казарян Н.П. Вторичное инфицирование гусениц златогузки различных возрастов// Ученые записки, Ереван, N 2, ЕГУ, 2006, С. 111-115.
5. Казарян Н.П., Григорян К.В., Саркисян М.А., Карян Ш.С. Численность аммонифицирующих бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов после интродукции энтомопатогенных кристаллообразуюших бацилл // Ученые записки, Ереван, N 3, ЕГУ, 2006, С. 71-77.

Ղազարյան Նաիրա Փայլակի

Bacillus thuringiensis տեսակի միջատասպանների ազդեցությունը Արագածոտնի մարզի խնձորենու այգիների հողերի կենսաբանական ակտիվության վրա

ԱՄՓՈՓԱԳԻՐ

Աշխատանքի նպատակն է եղել կենսացենոզի առանձին տարրերից անջատել վնասակար միջատների դեմ կենսաբանական բարձր արդյունավետությամբ օժտված Bacillus thuringiensis (BT) տեսակի տեղական միջատասպան շտամներ և միանվագ ցողումից հետո բացահայտել բյուրեղ առաջացնող միջատասպանների ազդեցությունը խնձորենու այգիների հողերի բերրիությունը պայմանավորող առանձին ցուցանիշների վրա:

Հետազոտությունները կատարվել են լաբորատոր և դաշտային պայմաններում 2003-2006 թվականներին:

Բացահայտված է, որ աշնանացան բվիկից և խնձորենու ցեցից մեր կողմից համապատասխանաբար անջատված BT(NAR)-3 և BT(NAR)-7 բակտերիալ միջատասպանների կուլտուրալ հեղուկները խնձորենու այգիներում ոսկետուտի և լեռնային օղակավոր մետաքսագործի թրթուրների դեմ ցուցաբերում են կենսաբանական բարձր արդյունավետություն (91,8% և ավելի):

Հաստատված է, որ միանվագ ցողումից հետո BT(NAR)-3 և BT(NAR)-7 միջատասպանների ապրելիությունը խնձորենու Այդոռեդ սորտի տերևների վրա 2 ամիս է, իսկ խնձորենու այգիների բաց-շագանակագույն և գորշ կիսաանապատային հողերում՝ 4 ամիս: BT subsp. thuringiensis և BT subsp. kurstaki միջատասպան հարուցիչները նշված հողերում պահպանվում են 3 ամիս:

Պարզված է, որ խնձորենու այգիների հողերում BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, BT subsp. thuringiensis , BT subsp. kurstaki բակտերիալ միջատասպանները չեն կորցնում սպոր-բյուրեղներ առաջացնելու իրենց ունակությունները և բացասաբար չեն ազդում նշված այգիների բաց-շագանակագույն և գորշ կիսաանապատային հողերի բերրիությունը պայմանավորող ցուցանիշների՝ բնական միկրոֆլորայի (ամոնիֆիկատորներ, ցելյուլոզ քայքայող մանրէներ) և ֆերմենտային (ցելյուլազ, ինվերտազ, ուրեազ) ակտիվության վրա, որն էլ ֆիտոֆագերի դեմ բակտերիալ ինսեկտիցիդների կիրառության լայն հնարավորություններ է ընձեռում:

Մշակված պայքարի համակարգերը ներդրվել են Արագածոտնի մարզի և հանրապետության բաց-շագանակագույն և գորշ կիսաանապատային հողերի վրա հիմնված խնձորենու այգիներում: