

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՍՏԱՏՈՒԹՅՈՒՆ ԳԵՎԻՉԱՅ ՏԵՂԵԿԱԳՐԻ
УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ ЕРЕВАНСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Թամական գիտություններ

3, 2006

Естественные науки

Биология

УДК 632.951: 631.161.2

Н. П. КАЗАРЯН, К. В. ГРИГОРЯН, М. А. САРКИСЯН, Ш. С. КАРЯН

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

Показано, что бактериальные инсектициды BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, BTB и лепидоцид не оказывают отрицательного влияния на количественный и качественный составы аммонификаторов (споровых и неспоровых) как в светло-каштановых, так и в бурых полупустынных почвах, что позволяет широко использовать их против фитофагов.

Введение. В почве обитает множество различных микроорганизмов (бактерии, актиномицеты, микроскопические грибы), разлагающие органические азотсодержащие соединения до аммиака и других конечных продуктов. Аммонификация играет исключительно важную роль в почве, так как определяет ее плодородие, переводя органический азот в усвояемую для растений форму [1]. Считается, что наличие свободного аммиака возможно в той среде, где соотношение N к C в разлагающемся субстрате не ниже 1:20 [2, 3]. При большом значении знаменателя увеличивается численность почвенных микроорганизмов, обеспеченных углеродом и конкурирующих с растениями за азот [4].

Известно, что лишь 20–40% от общего количества инсектицидов, применяемых в очагах массового размножения фитофагов, непосредственно воздействует на вредных насекомых, остальная же часть в конечном итоге попадает в почву [5]. По литературным данным [6], бактериальные энтомопатогенные препараты, созданные на основе вида *Bacillus thuringiensis* (BT), содержат не менее 45 млрд. жизнеспособных спор в 1 г порошка. Результаты наших опытов также показали, что интродуцированные в светло-каштановые и бурые полупустынные почвы яблоневых садов энтомопатогенные бациллы вида BT сохраняются от 3 до 4 месяцев. С учетом указанных фактов нами была поставлена задача исследовать в обоих типах почв численность аммонифицирующих бактерий (не образующих спор и спорообразующих) после интродукции энтомопатогенных кристаллообразующих бацилл.

Объекты и методы исследований. Работа выполнена в ЕГУ и Научном центре земледелия и защиты растений в мае–августе 2004–2005гг. Объектами исследований являлись энтомопатогенные кристаллообразующие бактерии BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, выделенные нами из трупов погибших гусениц озимой совки (*Agrotis segetum Schiff.*) и яблоневой моли (*Hyalophora malinellus Zell.*) соответственно, а также коммерческие бактериальные препараты битоксикациллин (БТБ) (БА 1500 ЕА/г) и лепидоцид (БА 3000 ЕА/г), полученные из Бердского химического завода Новосибирской области РФ.

Для установления численности аммонификаторов в светло-каштановых (Оганаван) и бурых полупустынных (Сасуник) почвах яблоневых садов Арагацотнской области опытные участки опрыскивали культуральными жидкостями штаммов и водными суспензиями бактериальных препаратов с помощью ранцевого опрыскивателя марки Ozdesan способом рандомизации.

Контролем служили неинфицированные участки.

Площади участков в вариантах (повторность – пятикратная) составляли по 10 м², расход рабочей жидкости – 1,0–1,2 л/10м². Титр энтомопатогенных бацилл в рабочей жидкости – не менее 600 млн./мл.

В микробиологических исследованиях использован метод почвенных разведений с высевом на твердых питательных средах: неспоровые аммонийфицирующие бактерии подсчитывались на мясо-пептонном агаре, спороносные бактерии – на смеси равных объемов мясо-пептонного агара и сусла-агара. Идентификация почвенных микроорганизмов проводилась с помощью определителей бактерий и актиномицетов [7, 8].

Результаты анализов подвергались математической обработке [9].

Обсуждение результатов. Микробиологическими исследованиями нами установлено (рис.1), что после интродукции бактериальных энтомопатогенов изменение количества неспоровых аммонийфицирующих бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов в период вегетации имеет следующую закономерность: начиная с мая их численность нарастает (в среднем соответственно 8,552 и 7,460 млн./г почвы), достигая своего максимума в июне (13,044 и 10,464 млн./г почвы), затем снижается в июле (10,176 и 5,580 млн./г почвы) и августе (6,228 и 3,816 млн./г почвы).

Колебания численности аммонийфицирующих неспоровых бактерий в почвах зависят от ряда условий: от содержания легкоусвояемого органического вещества в почве, ее температуры и влажности, а также аэрации [10]. Из данных табл. 1 можно полагать, что указанные условия были наиболее благоприятными в июне.

Математические расчеты показали, что различия в численности аммонийфицирующих неспоровых бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах существенны: расчетный t_{kp} Стьюдента с мая по август (3,604–10,724) был больше значения t_{kp} табличного (2,571) при $P_{0,95}$ и $n=5$.

С помощью t_{kp} Стьюдента было выявлено также, что различия в численности аммонийфицирующих неспоровых бактерий в контрольных (неинфицированных) и обработанных (интродуцированных кристаллофорами) участках недостоверны для обоих типов почв: расч. t_{kp} для светло-каштановой почвы равен 0,349–2,547 (табл. 1), а для буровой полупустынной – 0,480–2,022,

что в период вегетации меньше значения t_{kp} табличного. Следовательно, можно утверждать, что интродуцированные в агроценоз бактериальные инсектициды не влияют на количество аммонифицирующих неспоровых бактерий в светло-каштановых и бурых полупустынных почвах яблоневых садов в течение вегетации.

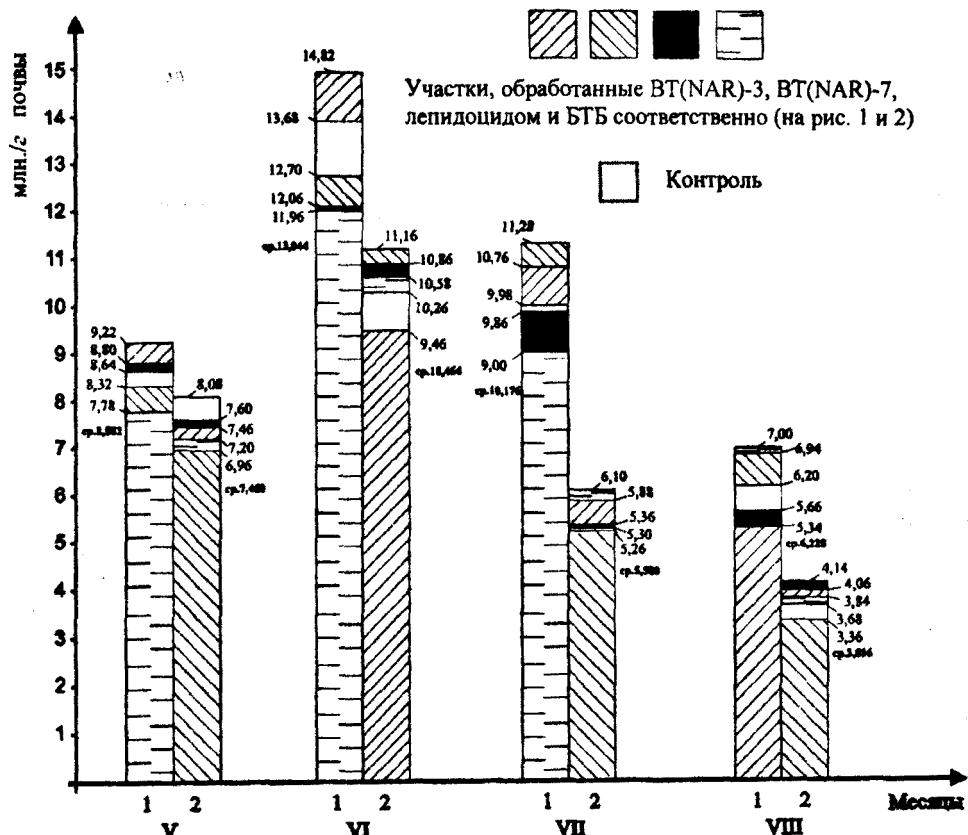


Рис. 1. Среднее количество неспоровых бактерий в светло-каштановых (1) и бурых полупустынных (2) почвах после интродукции бактериальных энтомопатогенов (2004–2005 гг.).

Большинство неспороносных бактерий почвы на питательных средах образует бесцветные, пигментированные и флюoresцирующие колонии, развитию которых, особенно флюoresцирующих, способствует обеспеченность их свежими органическими веществами [11, 12]. Среди неспороносных аммонификаторов абсолютное большинство составляли *Pseudomonas fluorescens*, *Ps. caudata*.

В процессе аммонификации также принимают участие споровые бактерии, которые осуществляют глубокую минерализацию трудноусвояемых форм органических веществ в почве [11].

Нами установлено, что численность споровых аммонификаторов в инфицированных и не инфицированных энтомопатогенами почвах яблоневых садов изменялась в течение вегетационного периода, нарастая 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) (рис. 2). Полагаем, что в обоих типах почв имелось достаточное количество сложного субстрата, содержащего азотистые соединения (смеси аминокислот) для успешного развития аммонифицирующих споровых бактерий.

Таблица 1

Статистические показатели неспоровых бактерий в светло-каштановых почвах яблоневых садов после интродукции кристаллофоров (2004г.)

Варианты опыта	Месяцы	Среднее количество неспоровых бактерий в 1г абс. сух. почвы, млн.	Квадратичное отклонение	Коэффициент вариации, %	Средняя ошибка	Ошибка опыта, %	t_{kp} Стьюдента (расчетный)
BT(NAR)-3	май	9,12	0,700	7,67	0,313	3,4	1,305
	июнь	15,00	1,200	8,00	0,537	3,6	1,393
	июль	11,08	0,952	8,59	0,426	3,8	0,903
	август	5,48	0,300	5,47	0,134	2,4	2,547
BT(NAR)-7	май	8,40	0,769	9,16	0,344	4,1	0,349
	июнь	13,00	1,252	9,63	0,560	4,3	0,986
	июль	11,56	1,248	10,80	0,558	4,8	1,389
	август	6,88	0,371	5,39	0,166	2,4	1,758
лепидопид	май	8,84	0,612	6,92	0,274	3,1	0,711
	июнь	11,72	1,342	11,45	0,600	5,1	2,394
	июль	10,12	0,952	9,40	0,426	4,2	0,542
	август	5,72	0,402	7,03	0,180	3,1	1,756
БГБ	май	7,88	0,676	8,58	0,302	3,8	1,621
	июнь	12,20	1,356	11,10	0,606	5,0	1,841
	июль	9,20	0,848	9,22	0,379	4,1	2,038
	август	7,20	0,335	4,65	0,150	2,1	2,169
контроль	май	8,56	0,496	5,80	0,222	2,6	
	июнь	13,84	1,155	8,35	0,516	3,7	
	июль	10,48	0,926	8,84	0,414	3,9	
	август	6,40	0,657	10,27	0,294	4,6	

Примечание: в табл. 1 и 2 t_{kp} Стьюдента (табл.)=2,571 при $P_{0,95}$ и $n=5$.

Количество спороносных бактерий в светло-каштановых почвах в среднем в 1,5 раза больше, чем в бурых полупустынных.

Математический анализ (с помощью t_{kp} Стьюдента) подтвердил, что нет существенного различия в численности споровых аммонификаторов в инфицированных и контрольных участках изучаемых типов почв (табл. 2).

Из споровых бактерий в процессе аммонификации принимали участие *Bacillus subtilis*, *Bac. mycoides*, *Bac. megaterium* и *Bac. mesentericus*. Из бурых полупустынных почв *Bac. mycoides* нами не выделялся.

Составы аммонификаторов в инфицированных и неинфицированных почвах были однотипными.

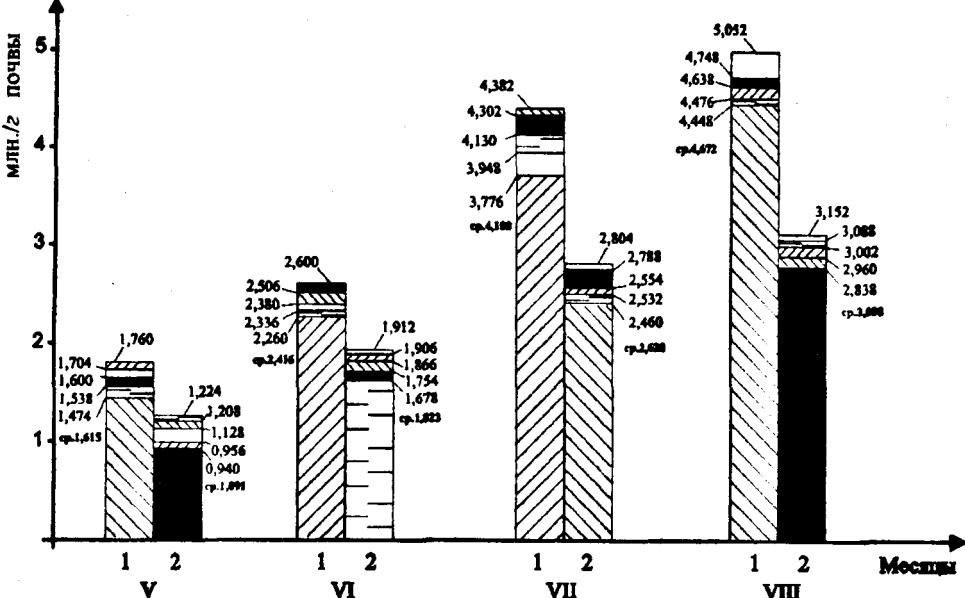


Рис. 2. Среднее количество спорообразующих бактерий в светло-каштановых (1) и бурых полупустынных (2) почвах после интродукции бактериальных энтомопатогенов (2004–2005 гг.).

Таблица 2

Статистические показатели спорообразующих бактерий в бурых полупустынных почвах яблоневых садов после интродукции кристаллофоров (2005 г.)

Варианты опыта	Месяцы	Среднее количество споровых бактерий в 1г абс. сух. почвы, млн.	Квадратичное отклонение	Коэффициент вариации, %	Средняя ошибка	Ошибка опыта, %	t_{kp} Стьюдента (расчетный)
BT(NAR)-7BT(NAR)-3	май	0,924	0,055	5,95	0,025	2,7	1,194
	июнь	1,920	0,148	7,71	0,066	3,4	1,906
	июль	2,620	0,177	6,76	0,079	3,0	2,073
	август	3,120	0,264	8,46	0,118	3,8	0,848
Биплоидный BT(NAR)-7BT(NAR)-3	май	1,196	0,111	9,28	0,050	4,2	0,660
	июнь	1,800	0,207	11,50	0,093	5,2	1,388
	июль	2,580	0,304	11,78	0,136	5,3	1,749
	август	2,800	0,246	8,79	0,110	3,9	2,425
БТБ	май	0,888	0,085	9,57	0,038	4,3	1,409
	июнь	1,792	0,161	8,98	0,072	4,0	1,621
	июль	2,760	0,250	9,06	0,112	4,1	0,863
	август	2,920	0,265	9,07	0,118	4,0	1,791
контроль	май	1,148	0,126	10,98	0,056	4,9	0,336
	июнь	1,700	0,145	8,53	0,065	3,8	2,430
	июль	2,480	0,263	10,60	0,118	4,7	2,521
	август	3,680	0,238	6,47	0,106	2,9	1,865

Выводы. Внесение бактериальных инсектицидов BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, БТБ и лепидоцида в агроценоз (светло-каштановые и бурые полупустынные почвы) с целью защиты яблоневых садов от фитофагов не оказывает отрицательного влияния на количественный и качественный составы аммонифицирующих бактерий (не образующих спор и споровых). Это позволяет широко использовать вышеуказанные инсектициды в борьбе с вредителями плодовых культур.

*Кафедра экологии и охраны природы ЕГУ,
лаборатория защиты леса НЦ ЗЗР*

Поступила 20.02.2006

ЛИТЕРАТУРА

1. Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. М.: Колос, 1970, с. 139–142.
2. Мишустин Е.Н. Микроорганизмы и продуктивность земледелия. М.: Наука, 1972, с. 67–68.
3. Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. М.: Колос, 1983, с. 132–133.
4. Черемисинов Н.А., Боеva Л.И., Семихатова О.А. Практикум по микробиологии. М.: Высшая школа, 1967, с. 103.
5. Чигарев Г.А., Старостин С.П., Калабина М.Н. – Бюлл. ВНИИЗР. Л., 1974, № 27, с. 13–18.
6. ԹԵՐԼԵՅՆՋԱԲ Հ.Լ. Հայաստանի Հանրապետությունում զյուղատնտեսական վնասատուների, հիվանդությունների և մոլախութերի դեմ օգտագործման համար թույլատրված բույսերի պաշտպանության միջոցները. Եր., 2002, էջ 58–63:
7. Красильников Н.А. Определитель бактерий и актиномицетов. М.–Л.: АН СССР, 1949, 829с.
8. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore, 1986, 1268 р.
9. Малета Ю.С., Тарасов В.В. Математические методы статистического анализа в биологии и медицине. М.: МГУ, 1982, 179 с.
10. Тимофеева А.Г. – Микробиология, 1954, т. 23, вып. 6, с. 662–668.
11. Чернобровина Р.М. Влияние неспороносных аммонифицирующих бактерий на накопление аммиачного азота в почве. Микробиологические процессы в почвах. Молдавии. Картия Молдовеняскэ, 1969, вып. 3, с. 14–19.
12. Саркисян М.А. Влияние BT var. *insectus* на микрофлору и биологическую активность почв лиственничных лесов Тувы: Автореф. дис. на соискание уч. ст. канд. биол. наук. Тбилиси, 1980, 22 с.

Ն. Փ. ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Կ. Վ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ, Մ. Ա. ՍԱՐԳՍՅԱՆ, Ը. Ս. ՔԱՂՅԱՆ

ԽՆՉՈՐԵՆՈՒ ԱՅԳԻՆԵՐԻ ԲԱՑ ԾԱԳԱՆԱԿԱԳՈՒՅՆ ԵՎ ԳՈՐԾ
ԿԻՍԱՎԱՊԱՏԱՅԻՆ ՀՈՂԵՐԻ ԱՄՈՆԻԱԿ ԳՈՅԱՅՆՈՂ
ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՔԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻՋԱՏԱՍՊԱՆ
ԲՅՈՒՐԵԴԱՌԱԶԱՅԱՅԱՅՆՈՂ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ՆԵՐՄՈՒՅՆԻՑ ՀԵՏՈ

Ամփոփում

Փորձարական հետազոտության արդյունքներով հաստատված է, որ BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, ԲՏԲ, լեպիդոցիդ բակտերիալ ինսեկտիցիդներով ցողումից հետո դրանք բացասաբար չեն ազդում խնձորենու այգիների բաց

շագանակագույն և գորշ կիսաանապատային հողերի ամոնիակ գոյացնող ոչ սպորավոր և սպորավոր բակտերիաների քանակական և որակական կազմի վրա, ինչը ֆիտոֆագերի դեմ վերոհիշյալ միջատասպանների կիրառությանը լայն հնարավորություն է ընձեռում:

N. P. GHAZARYAN, K. V. GRIGORYAN, M. A. SARGSYAN, Sh. S. KHARYAN

THE QUANTITY OF AMMONIUM CREATING BACTERIUM OF LIGHT
BROWN AND GRAY SEMI DESERT SOILS OF APPLE ORCHARDS
AFTER THE INTRODUCTION OF ENTOMO PATHOGEN BACTERIUM
CREATING CRYSTALS

Summary

It has been approved according to the experimental research results, that after insecticide BT(NAR)-3, BT(NAR)-7, BTB, Lepidocide bacterial insecticides do not have negative influence on the qualitative and quantitative composition of bacterium (spurious and non-spurious) ammonium creating of light brown and gray semi desert of apple orchards, which provides the opportunity of broad application of insecticides against the above mentioned phyto fagan.