



Հայաստանի կենսաբ. հանդես, 1 (73), 2021

ԱՆՏԱՌԱՅԻՆ ԴԱՐՉՆԱԳՈՒՅՆ ՀՈՂԵՐԻ ԿԱՏԱԼԱԶԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ BACILLUS THURINGIENSIS ՏԵՍԱԿԻ ԲԱԿՏԵՐԻԱԿԱՆ ՄԻՋԱՏԱՍՊԱՆՆԵՐՈՎ ՑՈՂՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ

Ե.Ն. ՉԱՊԱՆՅԱՆ

Սննդամթերքի անվտանգության ոլորտի ռիսկերի գնահատման և
վերլուծության գիտական կենտրոն
elene.chapanyan@mail.ru

Երկամյա (2019-2020 թթ.) հետազոտություններով հաստատված է, որ արտաբջջային կատալազի ակտիվությունը Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով (Bt_{ECHS}-68, Bt_{ECHS}-73, Bt_{ECHS}-92, լեպիդոցիդ) առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում հունիսից սեպտեմբեր կրում է դինամիկական փոփոխություն՝ առավելագույն և նվազագույն ակտիվություններ դրսևորելով համապատասխանաբար հունիսին և սեպտեմբերին:

Փորձի սխալի, տատանման գործակցի և Ստյուդենտի $t_{\text{ախտահարչության}}$ -ի ցուցանիշներով հաստատված է, որ գիտափորձերի արդյունքները հավաստի են, և Bt տեսակի բակտերիաներով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում կատալազի ակտիվությունների միջև չկա արժանահավատ տարբերություն:

Ստացված արդյունքները հնարավորություն են ընձեռում փորձարկված Bt տեսակի բակտերիական միջատասպանները համարելու անտառի տերևակեր վնասակար միջատների դեմ էկոլոգիապես անվտանգ պայքարի միջոցներ:

Bt տեսակի միջատասպան բակտերիաներ – անտառային դարչնագույն հողեր – արտաբջջային կատալազի ակտիվություն – ցողում – վիճակագրական ցուցանիշներ

Двухлетними (2019-2020 гг.) исследованиями установлено, что внеклеточная каталазная активность в неопрыскнутых (контроль) и опрыскнутых бактериальными инсектицидами вида *Bacillus thuringiensis* (Bt) (Bt_{ECHS}-68, Bt_{ECHS}-73, Bt_{ECHS}-92, лепидоцид) в коричневых лесных почвах с июня по сентябрь претерпевают динамические изменения: максимальная проявляется в июне, минимальная – в сентябре.

С помощью ошибок опыта, коэффициента вариации и $t_{\text{критерия}}$ Стьюдента установлено, что результаты опытов достоверны и нет достоверных различий в каталазной активности между неопрыскнутыми и опрыскнутыми Bt бактериями коричневыми лесными почвами.

Полученные результаты дают возможность считать испытанные бактериальные инсектициды вида Bt как экологически безопасные средства борьбы против листогрызущих вредителей леса.

Бактериальные инсектициды вида Bt – коричневые лесные почвы – внеклеточная каталазная активность – опрыскивание – статистические показатели

Upon the two-year (2019-2020) investigations it has been proved that the activity of the extracellular catalase undergoes dynamic changes from June to September in the brown forest soils

sprayed with bacterial insecticides of Bt type (Bt_{ECHS}-68, Bt_{ECHS}-73, Bt_{ECHS}-92, lepidocide) and in those of unsprayed soils (control), demonstrating maximum and minimum activity in July and September respectively.

Through the indices of experimental error, variation coefficient and Student's t-test it has been stated that the outcomes of scientific experiments are true and that there isn't any significant difference between the unsprayed brown forest soils (control) and those sprayed with bacterial insecticide of Bt type in terms of catalase activities.

The obtained results enable to consider the bacterial insecticides of Bt type as ecologically safe struggling measures against the harmful insects.

Insecticidal bacteria of Bt type – brown forest soils – activity of the extracellular catalase – spraying – statistical indices

Կատալազը օքսիդավերականգնող ֆերմենտներից է, որը երկբաղադրամաս է՝ կազմված սպիտակուցից և հեմինային (հեմոպրոտեիդ) կազմածո ակտիվ խմբից [8, 17]: Ֆերմենտները (այդ թվում՝ կատալազը) հողում չեն սինթեզվում, և դրանց հող են մտցնում կենդանի օրգանիզմները՝ հողաբնակ մանրէները, բույսերի արմատային համակարգը և անողնաշարավոր կենդանիներն իրենց կենդանության օրոք և մահից հետո՝ քիչների ավտոլիզի արդյունքում [14, 19]: Արտաբջջային կատալազը հողում տեղափակվում է 0,25 մմ-ից բարձր չափեր ունեցող մասնիկներով [23]: Նշված ֆերմենտի կենսաբանական առանձնահատկությունն այն է, որ այն, ջրածնի գերօքսիդը (H₂O₂) փոխարկելով ջրի և ազատ թթվածնի, պաշտպանում է հողաբնակ օրգանիզմներին ջրածնի գերօքսիդի վնասակար ազդեցությունից [8, 12, 13]:

Ջրածնի գերօքսիդն առաջանում է հողում առկա օրգանական նյութերի (սպիտակուցների, ճարպեր, ածխաջրեր և այլն) քայքայումից [13]:

Կատալազի ակտիվությունը համարվում է հողի կատալիտիկ հնարավորությունները և բերրիությունը բնութագրող ցուցանիշ [9, 11, 13]: Հաստատված է դրական համահարաբերակցական կապ կատալազի ակտիվության և հողում առկա հումուսի քանակության միջև [11]:

Հողային ֆերմենտներն ընդհանուր առմամբ ապահովում են կենսատրոփացնողի ամբողջականությունը [18, 24] և բնութագրում հողի որակական վիճակը [22, 26]: Հատկանշական է, որ հողերի օրգանական հորիզոններում, գումարային կատալիտիկ ակտիվության շրջանակում, կատալազի ավանդը կազմում է 47-55 % [14]:

Արտաբջջային ֆերմենտների ակտիվությունը հողերի ոչ միայն բերրիության, այլև գենետիկական տիպերի, էրոզվածության, աղակալման և ալկալիացման, ծանր մետաղներով աղբոսվածության, հողերի վրա՝ օգտագործված պարարտանյութերի, ինսեկտիցիդների և հերբիցիդների ազդեցության աստիճանը բնութագրող ցուցանիշ է [1, 2, 5, 8, 16]:

Հայտնի է, որ պայթարի նպատակով վնասակար միջատների դեմ օգտագործված ինսեկտիցիդների աննշան մասն է խոցում վնասատուներին, իսկ հիմնական չափաբաժինը (60-99 %) տարբեր ուղիներով՝ ցողելիս, անձրևաջրերով ցողված սաղարթը լվացվելիս [20, 21], մահացած թրթուրների և հարսնյակների մարմիններից [10] ի վերջո ընկնում է հող:

Մեր հետազոտությունների արդյունքներով հաստատված է, որ ցողման արդյունքում *Bacillus thuringiensis* (Bt) տեսակի միջատասպան բակտերիաներն անտառային դարչնագույն հող ընկնելիս նվազման միտումով պահպանվում են 4 ամիս [3]: Ուստի, ելնելով վերոնշվածից, խնդիր ենք դրել երկամյա (2019-2020 թթ.) հետազոտություններով բացահայտելու ցողման արդյունքում հող ընկած բակտերիական միջատասպանների ազդեցությունը կատալազի ակտիվության վրա՝ որպես հողի բերրիության ցուցանիշ:

Հետազոտության արդյունքները հնարավորություն կընձեռեն ընտրելու վնասակար միջատների դեմ կենսաբանական բարձր արդյունավետությամբ օժտված, էկոլոգիապես անվտանգ Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններ:

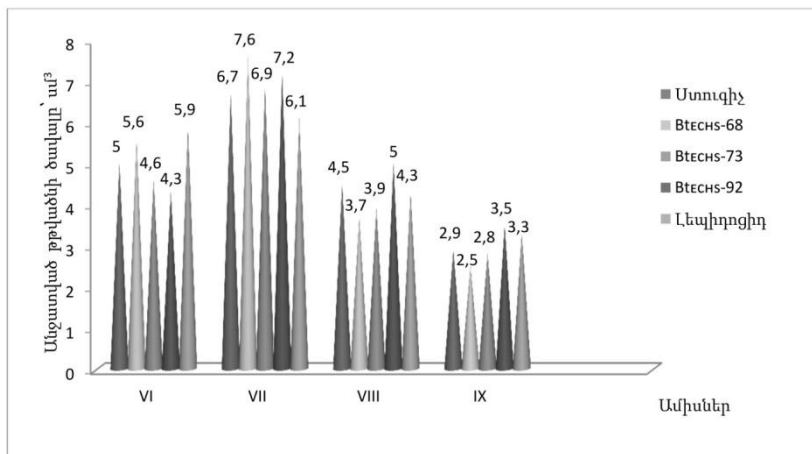
Bt տեսակի բակտերիական միջատասպանների ($Bt_{EChS-68}$, $Bt_{EChS-73}$, $Bt_{EChS-92}$) կենսաբանական արդյունավետության տվյալները ներկայացված են առանձին հրապարակումներում [4, 25]:

Լյուլթ և մեթոդ: Հետազոտության Լյուլթ են հանդիսացել մանրեաբանական եղանակով կաղամբի բվիկի (*Mamestra brassicae* L.), կաղամբի ճերմակաթիթեռի (*Pieris brassicae* L.) և խնձորենու ցեցի (*Hyponomeuta malinellus* Z.) բնականորեն մահացած թրթուրներից ձկապեպտոնային ազարի վրա մեր կողմից առանձնացված *Bacillus thuringiensis* (Bt) տեսակի համապատասխանաբար՝ $Bt_{EChS-68}$, $Bt_{EChS-73}$, և $Bt_{EChS-92}$ (անվանակոչումը մեր կողմից) բակտերիական միջատասպան շտամները, լեպիդոցիդ (ԿԱ 3000 ԱՄ/մգ պատրաստուկային փոշում) բակտերիական առևտրային պատրաստուկը, Արագածոտնի մարզի Ձորագլուխ համայնքին հարակից կաղնուտ անտառի անտառային դարչնագույն հողերը (A՝ 2-14 սմ ուղղաձիգ խորությունում հումուսը կազմել է 6,3%, pH-ը՝ 6,4), անտառային դարչնագույն հողում գտնվող արտաբջջային կատալազ ֆերմենտը:

Կատալազի ակտիվությունը որոշվել է 2019-2020 թթ. Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում (թարմ օդաչոր), հունիսից սեպտեմբեր (լաբորատոր պայմաններ)՝ համաձայն մեթոդական ձեռնարկի [9]: Ֆերմենտի ակտիվությունն արտահայտվել է 1գ հողում, մեկ րոպեում անջատված թթվածնի քանակով ($\text{սմ}^3 \text{O}_2$):

Անտառփորձատեղամասերում ցողումները կատարվել են OBT-1A մակնիշի տրակտորային, առանձին դեպքերում՝ Ozdesan մակնիշի մեջքի սրսկիչներով: Ցողված կուլտուրալ հեղուկների տիտրը (խտությունը) եղել է 600 մլն սպոր/մլ, իսկ աշխատանքային հեղուկի ծախսը՝ 1000 լ/հա: Հետազոտության արդյունքները ենթարկվել են վիճակագրական վերլուծության ըստ հանձնարարականների [6, 7]:

Արդյունքներ և քննարկում: Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ($Bt_{EChS-68}$, $Bt_{EChS-73}$, $Bt_{EChS-92}$, լեպիդոցիդ) առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում արձանագրված կատալազի ակտիվության երկամյա (2019-2020 թթ.) միջին ցուցանիշները ներկայացված են գծապատկեր 1-ում, որի տվյալներից երևում է, որ ֆերմենտի ակտիվությունը նշված հողերում վեգետացիայի շրջանում (հունիսից սեպտեմբեր) կրել է փոփոխություն:



Գծապատկեր 1. Անջատված թթվածնի ծավալի երկամյա (2019-2020թթ.) միջին ցուցանիշները Bt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում

Տարբերակներում արձանագրված կատալազի ակտիվության ցուցանիշները հունիսից ավելացել, առավելագույնի է հասել հուլիսին և աստիճանաբար նվազել օգոստոսից սեպտեմբեր:

Բt տեսակի բակտերիական միջատասպաններով ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում արձանագրված կատալազի ակտիվության երկամյա միջին տարբերակային ցուցանիշները հունիսին, հուլիսին, օգոստոսին և սեպտեմբերին տատանվել են համապատասխանաբար՝ 4,3-5,9; 6,1-7,6; 3,7-5,0 և 2,5-3,5 սմ³ O₂-ի սահմաններում՝ առավելագույն ակտիվություն դրսևորելով հունիսին, նվազագույնը՝ սեպտեմբերին:

Ստուգիչ տարբերակում կատալազի ակտիվության երկամյա միջին ցուցանիշները կազմել են համապատասխանաբար՝ 5,0; 6,7; 4,5 2,9 մ³ O₂/րոպեում (գծապատկեր 1): Գծապատկեր 1-ին բնորոշ օրինաչափություն՝ կատալազի ակտիվության փոփոխությունն վեգետացիայի շրջանում արձանագրվել է նաև 2019-ի գիտափորձերում (աղ. 1):

Աղյուսակ 1.

Բt տեսակի միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում կատալազի ակտիվության վիճակագրական ցուցանիշները (2019թ.)

Տարբերակներ	Հողանմուշների վերցնելու ժամկետը	Անջատված թթվածնի ծավալը, սմ ³ O ₂	Վիճակագրական ցուցանիշներ				
			Քառակուսային շեղումը	Տատանման գործակիցը, %	Միջին սխալը	Փորձի սխալը, %	Ստյուդենտի t-տեսակի հաշվարկային ցուցանիշները
		$\bar{x}$	σ	V	$\sigma_{\bar{x}}$	P	
BtECHS-68	Հունիս	5,3	0,297	5,60	0,133	2,5	1,195
	Հուլիս	6,9	0,651	9,43	0,291	4,2	1,529
	Օգոստոս	3,5	0,379	10,83	0,169	4,8	2,522
	Սեպտեմբեր	2,6	0,141	5,42	0,063	2,4	1,581
BtECHS-73	Հունիս	4,8	0,283	5,90	0,127	2,6	0,810
	Հուլիս	6,5	0,494	7,60	0,221	3,4	0,606
	Օգոստոս	3,8	0,329	8,66	0,147	3,9	1,534
	Սեպտեմբեր	2,6	0,219	8,42	0,098	3,8	1,447
BtECHS-92	Հունիս	4,4	0,559	12,70	0,250	5,7	1,739
	Հուլիս	6,5	0,738	11,35	0,330	5,1	0,466
	Օգոստոս	4,7	0,219	4,66	0,098	2,1	2,172
	Սեպտեմբեր	3,4	0,329	9,68	0,147	4,3	2,076
Լեպիդոցիդ	Հունիս	5,7	0,518	9,09	0,232	4,1	2,130
	Հուլիս	6,0	0,363	6,05	0,162	2,7	1,054
	Օգոստոս	4,0	0,310	7,75	0,139	3,5	0,784
	Սեպտեմբեր	3,1	0,210	6,77	0,094	3,0	0,976
Ստուգիչ (չցողված)	Հունիս	5,0	0,405	8,10	0,181	3,6	-
	Հուլիս	6,3	0,438	6,95	0,196	3,1	-
	Օգոստոս	4,2	0,405	9,64	0,181	4,3	-
	Սեպտեմբեր	2,9	0,352	12,14	0,157	5,4	-

Ծանոթագրություն. «<->» հաշվարկներն իրականացնելիս ստուգիչի տվյալները ներառված են Ստյուդենտի t-տեսակի բանաձևում

Աղ. 1-ի տվյալներից երևում է, որ 2019 թ.-ի նշված ֆերմենտի ակտիվության միջին ցուցանիշները գիտափորձերում հունիսին, հուլիսին, օգոստոսին և սեպտեմբերին ընդհանուր առմամբ տատանվել են համապատասխանաբար՝ 4,4-5,7; 6,0-6,9; 3,5-4,7 և 2,6-3,4 սմ³ O₂-ի սահմաններում՝ ֆերմենտի առավելագույն և նվազագույն ակտիվությունները ևս դրսևորվելով համապատասխանաբար հունիսին և սեպտեմբերին:

Որոշ հեղինակների պնդմամբ, հողաբնակ մանրէների ընդհանուր քանակությունը, հողի օրգանոգենությունը, ջերմաստիճանը, խոնավությունը, հողանմուշ վերցնելու ժամկետը համարվում են կատալազի ակտիվության դինամիկայի որոշիչ գործոններ [14, 15]: Հավանաբար, վեգետացիայի շրջանում վերը նշված գործոններով պայմանավորված է կատալազի ակտիվության դինամիկան Բt տեսակի բակտերիական

միջատասպաններով առանձին ցողված և չցողված (ստուգիչ) անտառային դարչնագույն հողերում:

Վիճակագրական վերլուծության արդյունքներով հաստատված է, որ փորձի սխալը տատանվելով 2,1-5,7 %-ի և տատանման գործակիցը 4,66-12,70 %-ի սահմաններում հաստատել են գիտափորձերի արդյունքների հավաստի լինելու փաստը: Ստյուդենտի $t_{\text{չափանիշ}}^2$ -ի հաշվարկային ցուցանիշները (0,466-2,522) $P_{0,95}$ $n=5$ -ի դեպքում լինելով փոքր Ստյուդենտի $t_{\text{չափանիշ}}^2$ -ի աղյուսակային 2,571 ցուցիչից հաստատել են, որ չկա արժանահավատ տարբերություն ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերի բերրիության ցուցանիշ հանդիսացող կատալազի ակտիվությունների միջև:

Աղ. 1-ում ներկայացված միջին սխալի ($\sigma_{\bar{x}}$ կամ m) ցուցանիշները եղել են փոքր և տատանվել են 0,063-0,330-ի սահմաններում, իսկ բառակուսային շեղման ցուցանիշները (σ) տատանվել են 0,141-0,738-ի սահմաններում, և նշված պարամետրը օգտագործվել է նաև միջին սխալի և Ստյուդենտի $t_{\text{չափանիշ}}^2$ -ի հաշվարկային ցուցանիշները որոշելիս:

Այսպիսով, հետազոտության արդյունքներից եկել ենք հետևության, որ կատալազի ակտիվությունը ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերում վեգետացիայի շրջանում կրում են դիսամիկական փոփոխություն՝ դրսևորելով առավելագույն և նվազագույն ակտիվություն:

Վիճակագրական վերլուծության արդյունքներով հաստատված է, որ գիտափորձերի արդյունքները հավաստի են, և չկա արժանահավատ տարբերություն Bt տեսակի միջատասպաններով ցողված և չցողված անտառային դարչնագույն հողերի կատալազ ֆերմենտի ակտիվությունների միջև:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. *Գրիգորյան Կ.Վ., Մովսեսյան Դ.Ս.* Ֆերմենտների ակտիվությունը որպես ծանր մետաղներով աղտոտված հողերի ախտորոշիչ ցուցանիշ: Երևան, ԵՊՀ, էջ 3-4, 2008:
2. *Կարապետյան Ա.Ս.* *Bacillus thuringiensis* տեսակի միջատասպանների ազդեցությունը Սևանա լճի անտառածածկ հողագործությունների կենսաբանական ակտիվության վրա: Ատեն. սեղմագիր ... կենս. գիտ. թեկն.: Երևան, 21 էջ, 2009:
3. *Չապանյան Ե.Ն.* Ցողումից հետո Bt տեսակի բակտերիական միջատասպանների քանակության դիսամիկական անտառային դարչնագույն հողերում: ՀԱԱՀ տեղեկագիր: Երևան, N3, էջ 76-80, 2019:
4. *Չապանյան Ե.Ն., Սարգսյան Ս.Ա.* *Bacillus thuringiensis* տեսակի հիմքով տեղական բակտերիական միջատասպանների կենսաբանական արդյունավետությունը ձմեռային երկրաչափի թրթուրների դեմ: Հայաստանի կենսաբանական հանդես, Երևան, LXX, 4, էջ 43-49, 2018:
5. *Սարգսյան Ս.Ա.* Հողային հերթիցիոնների ազդեցությունը կարտոֆիլով զբաղեցված սևահողերի կենսաբանական ակտիվության վրա Գեղարքունիքի մարզի պայմաններում: Սեղմագիր ատենախոս. գյուղ. գիտ. թեկն. հայց.: Երևան, 25 էջ, 2013:
6. *Ашмарин И.П., Воробьев А.А.* Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л., Медгиз, 180 с., 1962.
7. *Бернштейн А.* Справочник статистических решений. М., Статистика, 162 с., 1968.
8. *Галстян А.Ш.* Ферментативная активность почв Армении (Труды). Ереван: Айастан, В. VIII, 260 с., 1974.
9. *Галстян А.Ш.* Определение активности ферментов почв (Методические указания). Ереван, с. 8-10, 1978.
10. *Гукасян А.Б., Туранова Л.К., Саркисян М.А., Сорокина А.Г.* Продуктивность кристаллообразующих микроорганизмов в лесных биогеоценозах. В сб.: Микрофлора и перспективы ее использования в повышении продуктивности лесов. Красноярск: ИЛИД, с. 5-18, 1978.
11. *Гурович Ш. Р.* Ферментативная активность богарных сероземных почв Узбекистана. Узб. биолог. журнал, N 4, с. 60-61, 1975.

12. *Купревич В.Ф.* Вопросы почвенной энзимологии. Вестник АН СССР, N 4, с. 52-57, 1958.
13. *Некрасова В.Д., Гукасян А.Б.* Биологическая активность лесных почв Тувы. Новосибирск: Наука, 77 с., 1978.
14. *Перминова Е.М., Виноградова Ю.А., Щемелинина Т.Н., Лантева Е.М.* Каталазная активность подзолистых почв и ее изменение при естественном лесовосстановлении на вырубках среднетаежных еловых лесов. Известия Самарского научного центра Российской академии наук, 18, 1, с. 27-33, 2016.
15. *Саркисян М.А.* Влияние *Bac. insectus* Guk. (пигментный и атипичный штаммы) на микрофлору и биологическую активность почв лиственных лесов Тувы: Дис. ... канд. биол. наук. Красноярск, с. 120, 1980.
16. *Саркисян М.А.* Биологические основы применения бактериальных препаратов против главных вредителей с.-х. культур и леса в Армении: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Ереван, 32 с., 1999.
17. *Сэги Й.* Методы почвенной микробиологии. М., Колос, с. 249-250, 1983.
18. *Хазиев Ф.Х.* Функциональная роль ферментов в почвенных процессах. Вестник АН Респ. Башкирии, 20, 2 (78), с. 14-24, 2015.
19. *Хазиев Ф.Х.* Экологические связи ферментативной активности почв. Экобиотех, 1, 2, с. 80-92, 2018.
20. *Чигарев Г.А., Старостин С.П., Калабина М.Н.* Снос пестицидов при их применении. Бюл. ВНИИЗР. Л., N 27, с. 13-18, 1987.
21. *Яблоков А.* Игра против вредителей. Правда, 26 октября, N 299, с. 3, 1987.
22. *Allison S.D.* Soil minerals and humic acid alter enzyme stability: implications for ecosystem processes. Biogeochemistry, 81, 6, p. 361-373, 2006.
23. *Bach S.M., Hofmockel K.S.* Soil aggregate isolation method of intra-aggregate extracellular enzyme activity. Soil Biology and Biochemistry, 69, 1, p. 54-62, 2014.
24. *Burns R.G., DeForest J.L., Marxen J.* Soil enzymes in changing environment: Current knowledge and future directions. Soil Biology and Biochemistry, 58, 2, p. 215-234, 2013.
25. *Chapanyan E., Sargsyan M.* The biological efficiency of the local bacterial insecticide of *Bacillus thuringiensis* species against the caterpillars of the brown-tail moth. Bulletin of National Agrarian University of Armenia, Yerevan, N 3, p. 5-8, 2018.
26. *Karaca A., Cetin S. C., Turgay O. S., Kizilkaya R.* Soil enzymes as indication of soil quality. Soil Enzymology. Berlin, p. 119-148, 2011.

Ստացվել է 06.11.2020