

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

Қайратбек Ақерке

«Энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде ауылшаруашылық зиянкестерге қарсы биологиялық препараттарды алу технологиясын оңтайландыру»

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

5B070100 – «Биотехнология» мамандығы

Алматы 2019

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы



КОРҒАУҒА ЖІБЕРІЛДІ

БТ кафедрасының меңгерушісі

PhD, профессор

З.К.Туйебахова

2019 ж.

«06» Маусым

ДИПЛОМДЫҚ ЖҰМЫС

Тақырыбы: «Энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде ауылшаруашылық зиянкестерге қарсы биологиялық препараттарды алу технологиясын оңтайландыру»

5B070100 – «Биотехнология»

Орындаған

Қайратбек А.

Ғылыми жетекші

б.ғ.д., ассоц.профессор

Г.В.Курбанова

Г.В.Курбанова

«6» маусым 2019 ж.

Алматы 2019

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ

Қ.И. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті

Химиялық және биологиялық технологиялар институты

«Биотехнология» кафедрасы

5B070100 – «Биотехнология»



БЕКІТЕМІН

БТ кафедрасының меңгерушісі

PhD, профессор

З.К.Туйебахова

«06» Мамыр 2019 ж.

**Дипломдық жұмысты орындауға
ТАПСЫРМА**

Білім алушы Қайратбек Ақерке

Тақырыбы Энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде ауылшаруашылық зиянкестерге қарсы биологиялық препараттарды алу технологиясын оңтайландыру

Университет ректорының 2018 жылғы « 16 » қазан №1163-б бұйрығымен бекітілген

Аяқталған жұмысты тапсыру мерзімі 03.05.2019 жылы

Дипломдық жұмыстың бастапқы берілістері Диплом алды өнеркәсіптік практикадан алынған материалдар

Дипломдық жұмыста қарастырылған мәселелер тізімі:

а) Штамдардың біріншілік скринингі;

ә) Bacillus thuringiensis энтомопатогенді бактериясы негізінде культуралды сұйықтық алу технологиясын оңтайландыру және зертханалық ферменттерда өсіру;

б) Жинақталған үлгілердің кейбір қабыршаққанаттыларға қарсы биологиялық белсенділігін бағалау;



Сызбалық материалдар тізімі (міндетті сызбалар дәл көрсетілуі тиіс)

Ұсынылған негізгі әдебиет: 29 атау

Дипломдық жұмысты дайындау
КЕСТЕСІ

Бөлімдер атауы, қарастырылатын мәселелер тізімі	Ғылыми жетекші кеңесшілерге көрсету мерзімдері
Әдебиетке шолу	қаңтар
Материалдар мен әдістер	ақпан
Алынған нәтижелер	наурыз

Дипломдық жұмыс бөлімдерінің кеңесшілері
норма бақылаушының аяқталған жұмысқа қойған
колтаңбалары

Бөлімдер атауы	Кеңесшілер, аты, әкесінің аты, тегі (ғылыми дәрежесі, атағы)	Қол қойылған күні	Қолы
Әдебиетке шолу Материалдар мен әдістер Алынған нәтижелер	б.ғ.д., ассоц.профессор Курбанова Г.В.	06.05.2019	
Норма бақылаушы	Ғылыми магистрі Тұрғымбаева Қ.Қ.	06.05.2019	

Ғылыми жетекші _____



Г.В. Курбанова

Тапсырманы орындауға алған білім алушы _____



А.Қайратбек

Күні _____

«06» маусым 2019 ж.

АНДАТПА

Дипломдық жұмыстың мақсаты: *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясының негізінде жаңа белсенді аборигенді штамм-продуцентін іздестіру және соның негізінде биологиялық препаратты алу технологиясын жасау.

Нысаналар мен әдістемелер: Зерттеу объектілері – Қазақстанның түрлі табиғи аймақтарындағы өлі жәндіктерден және топырақтан бөлініп алынған *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясының коллекциялық штамдары: БТ-1, БТ-2, БТ-3, БТ-4 және БТ₁₋₁₂ штамы

Микроорганизм санын анықтау үш кезең бойынша стандартты методика бойынша жүргізілді: сұйылту дайындау; қоректік ортасы бар Петри табақшаларына егу; өсіп шыққан колонияларды санау.

Алынған нәтижелер:

- Жүргізілген зерттеулер *Bacillus thuringiensis* штамдары «ЛБ» және «ПС» қоректік орталарында қарқынды өсетінін, споралары көп болатынын, морфологиялық-физиологиялық қасиеттері сақталатынын көрсетті.
- «ЛБ» қоректік ортасында ферменттерде жақсы өсті, ары қарайғы биопрепараттар өндіруде қолдануға болады. Алынған мәліметтерді энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде биопрепараттар алуда қолдануға болады.
- Зерттеудің соңғы кезеңінде штамдардың жапырақ ширатқыш көбелектің жұлдызқұрттары, алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына және көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттарына қарсы уыттылығы тексерілді.

АННОТАЦИЯ

Цель дипломной работы: поиск нового активного аборигенного штамма-продуцента на основе энтомопатогенной бактерии *Bacillus thuringiensis* и оптимизация технологии получения биологических препаратов на ее основе.

Объекты и методы – объекты исследования-энтомопатогенные бактериальные штаммы *Bacillus thuringiensis* из почв и мертвых веществ в различных природных регионах Казахстана: штаммы БТ-1, БТ-2, БТ-3, БТ-4 и БТ1-12.

Определение количества микроорганизмов проводилось по стандартной методике в три этапа: подготовка разведения; посев в чашки Петри с питательной средой; подсчет растущих колоний.

Полученные результаты:

- Отобраны 5 штаммов с максимальной жизнеспособностью: штамм БТ-1; БТ-2; БТ-3; БТ-4; БТ-12.

- Эти штаммы активно растут на питательных средах ЛБ и ПС, образуют много спор сохраняют морфо – физиологические свойства.

- Отобранные штаммы хорошо росли в ферментере и могут быть использованы при создании биопрепарата.

- На завершающем этапе исследования было установлено, что из 5 отобранных штаммов наибольшую активность проявляют штаммы БТ-1 и БТ-4, которые вызвали токсичность по откожению к листоверткам и яблонной плодожерке.

ANNOTATION

The purpose of the thesis: the search for a new active aboriginal strain-producer based on entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* and optimization of technology for biological preparations based on it.

Objects and methods – objects of research-entomopathogenic bacterial strains of *Bacillus thuringiensis* from soils and dead substances in various natural regions of Kazakhstan: strains BT-1, BT-2, BT-3, BT-4 and BT1-12.

To determine the number of microorganisms is carried out according to the standard procedure in three stages: preparation of breeding; sowing in a saucer of Petri with a nutrient medium; calculation of growing colonies.

Obtained result:

- Selection on viability is carried out. The selected viable personality 5 strains. Strains BT-1 and BT-4, which showed the maximum rate.

- Studies show that strains of *Bacillus thuringiensis* are growing rapidly in the "LB" and "PS" in the Auliekol center, reusable spores, preserved morphological and physiological properties.

- "LB" has grown well in the public environment on farms, in the future biological products can be used in production.

- On the final stage of the study were tested against strains zvezdnosti lactopositive butterflies, zvezdochet Apple zvezdnosti multicolor butterfly and black butterfly.

МАЗМҰНЫ

Кіріспе	9
1 Әдеби шолу	10
1.1 Өсімдіктерді қорғауда энтомопатогенді бактериялардың маңызы және әсер ету механизмі	10
1.2 Энтомопатогенді бактериялар негізінде алынған биопрепараттар	13
1.3 Ауылшаруашылығындағы негізгі зиянкестер және олармен күресу	15
1.4 Қабыршаққанатты көбелектер және таралу ареалдары мен зияндылығы	17
1.5 Қазақстанда зиянды бунақденелілерге қарсы күресте <i>Bacillus thuringiensis</i> энтомопатогенді бактериясын қолдану	20
2 Зерттеу материалдары мен әдістемелері	21
2.1 Тіршілік қабілеттілігіне байланысты коллекциялық штамдарды іріктеу (скрининг)	21
2.2 Энтомопатогенді бактерияларды әртүрлі қоректік орталарда өсіру процесі	22
2.3 Бактерияның морфо – культуралдық ерекшеліктерін зерттеу әдістері	23
2.4 Штамдардың биологиялық белсенділігін анықтау	24
3 Зерттеу нәтижелері	26
3.1 Штамдарды тіршілікке қабілеттіліктеріне қарай іріктеп алу	26
3.2 Әртүрлі қоректік орталарда өсірілген энтомопатогенді бактерияларды зерттеу	28
3.3 Энтомопатогенді бактериялардың дақылдық морфологиялық ерекшеліктері	31
3.4 Қабыршаққанатты зиянкестерге қарсы штамдардың биологиялық белсенділіктері	32
Қорытынды	36
Пайдаланылған әдебиетер тізімі	39

КІРІСПЕ

Қазіргі таңда өсімдіктер мен ауыл шаруашылық өнімдерін зиянкес жәндіктерден қорғауда химиялық тәсілден, биологиялық тәсілге көбірек жүгініп отыр, яғни биопрепараттарға сұраныс артып келеді. Жұмыстың өзектілігі энтомопатогенді бактерия негізінде адам және экология үшін жаңа қауіпсіз биологиялық жолды қарастыра отырып, энтомопатогенді микроорганизмдер штамдарының топтамасын биопрепарат ретінде жәндіктерге қолдануға мүмкіндік беретін биологиялық белсенділігі жоғары штамдарын іріктеп алу және іріктелген штамдар негізінде биологиялық препарат алу технологиясын оңтайландыру.

Көптеген жылдар бойы зиянды бунақденелермен күресу үшін *Bacillus thuringiensis* бактериясының негізінде жасалған биопрепараттар қолданылып келеді. Бұл препараттармен өндегеннен кейін өсімдіктер бунақденелердің әсеріне ұшырамайды. Бактериялардың әсер етуші негізі бунақденелерге уытты болып келетін ақуызды эндотоксиннің споралары мен кристаллдары, экзотоксин және кейбір ферменттер түзеді.

Bacillus thuringiensis – бұл өсімдік қорғаудың қауіпсіз құралы: қоршаған ортаға түскенде олар табиғи реттеуіш механизмін сақтайды және гомеостаз бен экожүйенің тұрақты дамуының нақты факторлары ретінде жүреді.

Қазіргі таңда биопрепараттар нарығының 90-95 % Bt бактериясының споралы-кристаллды кешенінен тұрады. Дүниежүзінде Bt бактериясы негізіндегі 20 жуық өнеркәсіптік препарат үлгілері жасалған. Тек Ресейдің өзінде ғана оннан астам осындай препараттар жасалған.

Жұмыстың мақсаты – *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясының негізінде жаңа белсенді аборигенді штамм-продуцентін іздестіру және соның негізінде биологиялық препаратты алу технологиясын жасау. Ауылшаруашылығы дақылдарын зиянды бунақденелілерден қорғау үшін *Bacillus thuringiensis* бактериясының қазақстандық штамының негізіндегі биологиялық препараттарды алу технологиясын жасау.

Осы мақсатты жүзеге асыру үшін келесідей міндеттерді орындау қарастырылды:

- 1 Штамдардың біріншілік скринингі.
- 2 Продуцент-штамның физиологиялық-биохимиялық ерекшеліктері негізінде аса тиімді қоректік орта құрамын және культивирлеу жағдайын таңдау.
- 3 *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясы негізінде культуралды сұйықтық алу технологиясын жасау (зертханалық регламент) және зертханалық ферменттерда өсіру.
- 4 Жинақталған үлгілердің кейбір қабыршаққанаттыларға қарсы биологиялық белсенділігін бағалау.

1 Әдеби шолу

1.1 Өсімдіктерді қорғауда энтомопатогенді бактериялардың маңызы және әсер ету механизмі

Bacillus тұқымдасына температураға төзімді споралар түзетін бактериялар жатады. Өсімдікті биологиялық қорғау үшін маңызды болып табылады. Спора түзетін энтомопатогенді бактериялар жібектің тұт ауруын зерттеу барысында Луи Пастермен ашылған болатын. Алайда споралы кристалл түзуші микроорганизмдер туралы нақтылы дәлелдер Жапонияда жарық көрді. Осылайша 1901-1902 жылдары жапон ғалымы Ishiwata жібек тұт құртынынан спора түзетін бактерияны бөліп алып *Bacillus sotto* деп атады. Еуропада *Bacillus thuringiensis* жайлы мәлімет қамба көбелегін әкелгеннен кейін пайда болды (*Ephestia Ruchniella Zell*). Осылайша Германияның Тюрингии аймағынан 1911-1915 жылдары Берлинер ғалымы жоғарыда аталған ауру жұлдызқұрттан спора түзетін бактерияны бөліп алып оны *Bacillus thuringiensis* деп атады [1].

АҚШ-та Штейнхауз өзінің Маттесаның *Bacillus thuringiensis* штамы жайлы өзінің деректерін келтірді, ол штамм жасанды қоректік ортада 20 жыл сақталып, жәндіктерге қарсы белсенділігін жоймаған [2].

Бацилалар тобының *Bacillus thuringiensis* штамын идентификациялау схемасы А.Н. Heimpel және Т. Angus-пен құрастырылды. Авторлар АМК, фосфолипаза, және пигмент түзілуіне байланысты келесі үш түрді сипаттады: *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus entomocidus*, *Bacillus finitimus*. Өз кезегінде әр түрге олар өзіндік қатар қосып отырды. Кристаллтүзуші бацилалардың осындай идентификациялау схемасын ұсынды [3].

Энтомопатогенді кристаллтүзуші бацилалардың негізгі классификациясы жасалды. Олар *Bacillus thuringiensis* негізгі 35 түрлі белгілерін зерттеді, идентификациялау мақсатында алғаш рет талшықты агглютинацияға негізделген серодиагностика қолданылды. *Bacillus thuringiensis*-тің 24 штамын жинап, зерттеп оларды 6 сероқатарға бөлді.

1980-1987 жылдары Ресейде бірнеше жаңа штамм ашылды. Томск және Алтай аймағының жәндіктер популяциясынан *Bacillus thuringiensis subsp. Galleriae* штаммы бөлініп алынып, сипатталды. Г.М. Иванов және А.Б. Гукасян орамжапырақ жұлдызқұртынан келседей жаңа сероқатарларды бөліп алып зерттеді: *Bacillus thuringiensis subsp. Argusuniensis* пен *subsp. Brassicae*. Сібірде В.П. Ходырев эпифитті микрофлорадан жаңа – *subsp. Foliates* штамын бөліп алды, ол биохимиялық қасиеттерімен *subsp. Sotto*-ға жақын болды, тек ол саруыз бар қорек ортасында қызғылт-сары пигмент түзе алу қабілетіне ие болды. Серологиялық қасиеттерін 14 сероқатардың анти сарысу арқылы зерттеу барысында бұл штамның антигенді құрылымының тұрақтылығы анықталды [4].

Кристаллтүзу *Bacillus thuringiensis*-тің тұрақты қасиеті және оның патогенділігінде ерекше орын алады. Тіпті кейбір изоляттар 50 жыл бойы жасанды қорек ортасында өскенімен токсикалық кристалдарды түзу қабілетіне ие болды.

Химиялық құрылымы жағынан кристал деп құрамына 18 аминқышқылы кіретін белокті қосылыс аталады. Кристаллдар температураға төзімсіз және суда ерімейді.

Көптеген ғалымдардың жұмысында кристаллдың әсер ету механизмі және токсикалығы түсіндірілген. Кристаллдың әсері қабыршаққанаттыларда жақсы зерттелген. Зақымдалу процесі кезінде токсикалық кристаллдар ішектің жұмысын нашарлатып, эпителии бұзылуына әкеледі, осылайша бактериялар ішектен денеге оңай өтіп кетеді, осылайша олар денеде тез көбейіп летальді септицемия туғызады.

Споратүзуші энтомопатогенді бактерияларды Луи Пастер өзінің тұт жібек құртының ауруларын зерттеу кезінде байқаған болатын. Бірақ, споралы кристалл түзуші микроорганизмдер жөніндегі алғашқы көз жеткізерлік жұмыстар Жапонияда жарияланған болатын. 1901-1902 жылдары жапон оқымыстысы Ишивата тұт жібек құрттарынан спора түзуші бактерияларды бөліп алды, оны *Bacillus sotto* деп анықтады. 1908 жылдан бастап Ивабуши Жапонияда «sotto» - тұт жібек құрты құртының параличін қоздырғышы жөнінде жазды. Еуропада *Bacillus thuringiensis* жөніндегі мәліметтер «*Ephestia kuehniella* Zell» қамбалық отшаларды әкелгеннен кейін пайда болды. Сонымен, Тюрингия провинциясында (Германия) жоғарыда аталған насекомның ауру құртынан неміс ғалымы Берлинер спора түзетін бактерияларды анықтады және оны *Bacillus thuringiensis* деп атады.

В.П. Поспелов, жаппай эпизотияны зерттеп, оның себебі жәндіктерде тіршілік ететін бактериялар әсерінен болады деген болжамға келді. Олар қоршаған ортаның әртүрлі әсерінен физиологиялық жағдайы төмендеген жәндік ішінде патогенді формаға айналады. Ары қарай В.П. Поспеловтың бактерия – симбионттар потенциалды патоген деген ойы басқа ғалымдармен зерттелді. Қоршаған ортаның түрлі факторлары (температура, ылғалдылық, интоксикация, екіншілік инфекциялар) ішекте тіршілік ететін бактериялардың «патогенді» түрге айналдыратыны белгілі болды [5].

Әдетте бактериоздан лабораторияда немесе инсектаторда өсетін жәндіктер зардап шегеді, себебі онда табиғи ортадағы жағдайларды қамтамасыз ету қиын.

Ішек жолдарының бактериялары түрлі қоздырғыштар: бактерия, вирус, саңырауқұлақ, қарапайымдылар әсерінен туатын аурулардың микрофлорасында да кездеседі. Ерекше назар *Bacillus thuringiensis* қоздырғышы әсерінен болатын патогенез ауруларының микрофлорасына кіретін ішек бактерияларына аударылып отыр.

Н.П. Исакова орамжапырақтың ақшыл ауруын тудыратын орамжапырақ көбелегінің, көбелек-гамма аурулары кезінде *Bacillus thuringiensis subsp. Galleriae* штамының ішек флорасындағы рөлін зерттеді. Алынған нәтижелер бойынша ішек флорасының сандық құрамы мен инфекциялануға сезімталдылық арасындағы байланыс анықталды. Ішек құрамында бактериялар саны көп болған сайын олар *Bacillus thuringiensis* тудырған патогенді процеске қосылып кетеді [6].

Қазіргі кезде әдебиеттерде *Bacillus thuringiensis* құрылымы туралы детальды ақпарат бар, оларды зерттеу үшін биохимияның, молекулярлы биологияның, гендік инженерияның және электронды микроскопияның әдістері кең қолданылады.

1983 жылы *Bacillus thuringiensis* *subsp. Tenebrionsis* бактериясы бөлініп алынды, олар патотип С – қатқылқанаттылар патогеніне жатқызылды. (*Coleoptera*). Қатқылқанаттыларда болатын d – эндотоксиндердің *Lepidoptera*-дан айырмашылығы олардың токсиндері протоксин түрінде ғана емес сонымен қатар молекулярлық массасы 55-67 кДа болатын белсенді токсин түрінде де болады. Олар кристалл түзілу кезінде продуцент бактериялардың белоктарының протеиназалар әсерінен модификациялануы нәтижесінде түзіледі. Ларвицидті *Bacillus sphaericus* және *Bacillus thuringiensis* Н14 штамдарының экологиялық әсері Т.С. Ковачевамен зерттелді. *Bacillus sphaericus*-тің *Bacillus thuringiensis* Н14 қарағанда экологиялық икемділігі анықталды, ол қансорғыш масалардың су қоймаларында санын бақылап отыруды ұзартуға жағдай жасап отыр [7].

Bacillus thuringiensis-тің әсер ету спектрін арттыру мақсатында конъюгация әдісі арқылы жаңа гибридті штамдар жасалды, олар аналық түрге қарағанда жоғары белсенділікке ие. Конъюгация *kurstaki*, *aizawai*, *entomocidus*, *israelensis*, *tenebrionsis* штамдары араларында жасалды. Олардың ішінде жоғары эффективті 21004 штамы, ол *var.kurstaki* және *tenebrionsis* негізінде алынды. Ол қабыршақ және қатқылқанаттылардың белокты токсиндерінің синтезін кодтайтын гендері бар плазмидаларды алып жүреді [8].

Зиянды жәндіктерге қарсы тұра алатын темекі сорттарын алу әдістері жасалған. Пісіп жетілген темекі клеткасына *Bacillus thuringiensis* генін енгізу арқылы зақымдаушы жәндіктерге қарсы жоғары тұрақтылық пайда болады және ол келесі ұрпақта сақталады.

Bacillus thuringiensis kurstaki кристалды белогының мақтаның эндофитті бактериясы *Bacillus cereus*-ке клондауы мен экспрессиясы жүргізілді, олар дамып келе жатқан өсімдіктің барлық мүшелеріне еніп зақымдаушыларға тұрақтылықты арттырады. В.С. Кулагин токсинтүзуші өндірістік продуцент биопрепарат битоксибациллин – *Bacillus thuringiensis subsp. Thuringiensis* 202, 1140, 98 және дендробациллин – *Bacillus thuringiensis subsp. Dendrolimus* 49/8 генетикалық бақылауы зерттелді және химиялық мутагенез жолымен *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді штамы алынды. *Bacillus thuringiensis subsp. Dendrolimus* 49/8 мутантты штамдары алынды

А.Я. Лескова (1983) бактерия әсерін бесінші серотипке жаңа термостабильді экзотоксин (бета-экзотоксин) құрайтын *Galleria* түрін отрядтың бунақденелілер түрінде зерттей келе оларды сезімтал дәрежесіне қарай ажыратылатын төрт топқа бөлген. Бірінші топқа жоғары дәрежеде қабылдайтын және зертханалық тәжірибеде өлетін қабыршақ қанаттылар жатқызылған. Бұларға нағыз күйелердің кейбір түрлері, ала күйелер, ойық қанатты күйелер, жапырақ ширатқыштар, нимфалидтер және ақ көбелектер жатады. Екінші топты қабыршақ қанаттылар тұқымдастарының дені таза популяцияларының жұлдызқұрттарының өлгендері 70 % аспаған өкілдерді

кұрайды. Бұлар қан көбелегі, піллә иіргіштер, мұр көбелектер, айырлы көбелектер және аю көбелектер. Іс жүзінде қабылдамайтын қоңыр көбелектер жұлдызқұрттары (гамма көбелегінен басқалар) мен егеушілер үшінші топқа жатқызылады және төзімділер – түзуқанаттылар, тең қанаттылар, қатты қанаттылар және қос қанаттылар өкілдері төртінші зеттелген топ бунақденелілері болды. Осы топқа тоғышарлық жарғақ қанаттылар жатқызылады, бұлар имаго кезінде бактерияларға төзімді. Бұлардың дернәсілдерінің өлуі иелерін өңдеуде және тоғышардың даму фазасына байланысты болады [9].

Бета-экзотоксин немесе термостабильді экзотоксин. Бұлар бактериялар клеткаларының метаболизмінің негізгі компоненті (негізгі бөлігі) болып саналады. Химиялық табиғаты бойынша ол нуклеотидтерге жақын – аденин немесе урацил, ал кейбір зерттеушілер лераденозинуші фосфор қышқылының құрылымдық аналогтарына жатқызады. Кристалдық табиғаты жоқ. Токсин культуралдық сұйықтықтан споралар мен бактерия кристалдарын бөлгеннен кейін культурада жиналады. Бұл токсин жоғары температурадағы тұрақтылығы үшін аталған, белсенділігін 120°C автоклав аралығында 15 минут сақтаған.

Термостабильді экзотоксин заты суда ериді, сілті әсеріне төзімді, қышқылдарда гидролизденеді, 4 сағат бойы 110°C қыздыруға шыдайды.

Химиялық немесе ферментативтік әдіспен фосфорын айырғанда бунақденелілерге улы болмайды.

Термостабильді экзотоксин әсіресе сезімтал бунақденелілер дернәсілдеріне қарсы қолданғанда аса тиімді. Кристаллды эндотоксинге қарағанда экзотоксин спектрлі әсер ететін болады. Ол тек қабыршақ қанаттыларға (соның ішінде қоңыр көбелектерге) ғана емес, сонымен қатар түзу қанаттыларға да, кейбір қоңыздарға, қос қанаттыларға да, басқа организмдер тобындағы кенелерге және парамецийлерге де улы болады. Осыған орай Н.В. Кандыбин және басқалар жаңа типті препарат битоксибациллинді немесе БТБ – 202 жасаған. Бұл препарат кристалдар мен термостабилді споралар құрамаларынан тұрады [10].

Аз мөлшерде термостабильді экзотоксинді препараттар (бактан Л – 69, биотлор 25W және басқа) белгілі.

1.2 Энтомопатогенді бактериялар негізінде алынған биопрепараттар

Әлемдегі дамыған мемлекеттер бұрыннан химиялық препараттармен қатар, биологиялық препараттарды да қолданады, мысалы, дипел (АҚШ), лепидоцид (Ресей), бактокулицид (Ресей), новодор (АҚШ), цефалоспорин (Польша), микотал (Швейцария) және т.б.

Қазақстан үшін мұндай препараттарды сатып алу экономикалық тұрғыдан тиімсіз; екіншіден Қазақстанның құрғақшылық жағдайынан микроорганизмдер эффективтілігі болмауы мүмкін. Сол себептен жергілікті штамдар негізінде алынған, аймақтың қуаңшылық жағдайына бейімделген, отандық биопрепараттар шығару қажеттілігі туындады

Ауылшаруашылығына қолданылатын препараттар 3 топқа бөлінеді:

Ресейдегі биотехнологиялық препараттар өндірісі 3 топтағы энтомопатогенді препараттарды шығарады

1 *Bacillus thuringiensis* негізінде алынған бактериалды препараттар – энтобактерин-3, дендробациллин, инсектин, токсобактерин.

2 *Beauveria bassiana* саңырауқұлағы негізінде алынған боверин препараты.

3 Ядролық полиэдр негізінде алынған препараттар (вирин-ЭНШ, вирин-ЭКС және басқалары).

Барлық микробтық патогендер ұнтақ, паста кейде гранула, спора эмульсиясы, кристаллдар түрінде шығарылады.

Bacillus thuringiensis штамын сұйық қорек ортасында культивирлеу туралы мәліметтер 1956 жылы жарық көрді. 1958 жылы Г. Ванкова *Bacillus thuringiensis*-тің тереңдік өндірістік ферментациясының шарттары туралы мәліметтерді жариялады. Сол кезден бастап *Bacillus thuringiensis* споралары мен кристалдары бар препараттар сатыла бастады.

XX ғасырдың 70-80 жылдары әлемде келесі өндірістік препараттар шығарыла бастады: дендробациллин, энтобактерин, токсобактерин, инсекин, битоксибациллин, лепидоцид, БИПигомелин–Кеңес одағында; биотрол, бактан, агритол, параспорин, турицид, дипел–АҚШ-та; спореин, бактоспеиниплантибак – Францияда; бактукал – Югославияда, батурин – Чехословакияда.

Соңғы жылдары ауылшаруашылық микробиологиясының ғылыми зерттеу институтында (Санкт-Петербург) *Bacillus thuringiensis* негізінде бацикал жоғары эффективті препараты жасалды, ол қатқылқанаттыларға қатысты селективті әсер етеді. Оны 2 кг/га жерге қолдану барысында крестгүлділердің зақымдаушылары және ересек қатқылқанаттылар саны азайған.

Ресейде *Bacillus thuringiensis subsp. Tenebrionsis* (H-8a 8b) демицид штамы негізінде биопрепарат жасалып шығарылды. Ол ауылшаруашылығында 1992-1996 жылдары қолдануға рұқсат етілген препарат болып табылады. Оны 5 кг/га жерге қолдану кезінде, картоп және бадана культураларында белсенділігі 46,5 және 96,8% аралығында ауытқып отырды [11].

Қазақстан республикасының ҰҒА микробиология және вирусология институтында өсімдіктердің зақымдаушыларына қатысты препараттар ойлап табылды.

Bacillus thuringiensis var. tenebrions негізінде жасалған препарат сатылымға шығатын өнімдерде болатын қатқылқанаттыларға қарсы қолданылады

А.Я. Лескова, Л.М. Рыбина, жәндіктер популяциясындағы токсикалық әсерден кейінгі процесстерді зерттеп кристалл түзуші бацилалардың эффективтілігін олардың популяцияға толық әсер арқылы қарастыру керек деген болжамға келді. Олардың химиялық инсектицидтерге шек қойылған уақыт аралығын қарастырмауға болады деген болжам жасады. Олар биоценозға *Bacillus thuringiensis*-і бар препараттарды көп қоспауға болады деп айтты, осы жол арқылы зақымдаушының толық өліміне алып келетінін дәлелдеді.

Зақымдаушының бастапқы кезде санын бір қалыпта ұстап қалу үшін препаратты керек мөлшерде қосу дұрыс болып саналады[12].

А.Я. Лескова, биопрепараттардың өңделген өсімдіктерде және топырақта сақталу мөлшерін зерттеп, инсоляция мен тұнбаға түсу споралардың және токсиндердің өсімдікте сақталу уақытын азайтады деген тұжырымға келді.

Thuringiensis тобының бактерияларының топырақтағы, өңделген тұт ағашындағы жібек жұлдыз құртына қарсы токсигенділігінің сақталу мерзімі анықталды. Алғаш рет дендробациллин продуцент – культураларының тұт ағашының жапырақтарының әсерінен ингибирлену процесі анықталды.

Осылайша зерттеу нәтижелері көрсеткендей әлем бойынша спецификалық қасиеттері бар, қолдану аясы кең *Bacillus thuringiensis*-тің түр асты мүшелері белсенді түрде анықталуда. Соңғы жылдары *Bacillus thuringiensis*-ті заманауи гендік инженерия, молекулярлы биология және электронды микроскопия жолдарымен зерттеу жұмыстары жүргізілуде. Қазіргі уақытта биопрепараттарды әлемнің жетекші елдері шығарып, қолданады.

Ресейде ғылыми-зерттеушілік институттыңда ризосфералы микроорганизмдердің белсенді штамдары негізінде биопрепараттар шығарылған. Мысалы, *Pseudomonas* негізінде шыққан, экстрасол препараты дәндер мен түйнектерді егу алдында қолданылады, көшет отырғызғаннан соң топырақты суаруға қолданылаы. Препарат өсімдіктерге көп мөлшерде минералды элементтердің түсуін іске асырады, өсу және басқа биологиялық белсенді заттарды синтездеп, фитопатогенді микроорганизмдердің белсенділігін төмендетеді [13].

Белорусияда планриз (ризоплан) атты биопрепарат құрастырылған. Сұйық препарат. Астық тұқымдас түптеріндегі шіріктерді улауға арналған, картоп түйнегінің ауруына қарсы препарат.

1965 жылы Жапонияда касугамицин (касумин) препараты шықты. Оның Жапониядағы жылдық өндірісі 20 мың тоннаны құрайды. Ол күрішті пирикулярриоздан, бұрыш, қияр, картоп, үрмебұршақты бактериоздан (*Pseudomonas sp.*, *Erwinia carotovora*), қызанақ, алма ағашын, қызылшаны 8 түрлі фитопатогендерден қорғауда қолданады.

Бүгінгі күнде зиянкестерге қарсы маңызды биоагенттердің бірі *Bacillus thuringiensis* бактериясы. Бактериялық биоинсектицидтер өндірісінің өнеркәсіптік негізі. Бұл топтың бактериялары ерекше энтомоцин токсинін бөлетін, жәндіктерге жоғары белсенділікке ие, қоршаған ортаға зиянсыз спора түзуші бактерияларды біріктіреді.

1.3 Ауылшаруашылығындағы негізгі зиянкестер және олармен күресу

Қызанақтың негізгі зиянкестері. Күздік көбелек – зиянды кеміргіш көбелектердің бірі. Ол Оңтүстік-Қазақстан облысындағы қызанақ көшеттеріне айтарлықтай зардап тигізуде, бұл топыраққа отырғызылған өсімдіктің қатты сиреуіне әкеліп соғады. Күздік көбелектің ұзындығы 16-20 мм. Қанаттарының

пәрмені 35-45 мм. Алдыңғы қанаттары қоңыр, қараға жақын, арқылары ашық түсті, қошқыл жолақтары бар.

Жұмыртқа шар тәрізді, тегіс негізімен. Жоғары жағының жартысында 16-20 радиустар бар. Жұмыртқа диаметрі 0,5 мм. Сүтті-ақ түсті жұмыртқа басқан соң, қызыл немесе қоңыр түске айналады.

Жұлдызқұрттардың ұзындығы 52 мм-ге дейін, сұр түсті, жоғары жақ арқасында жіңішке қошқыл жолақ орналасқан.

Оңтүстік Қазақстан облысында күздік көбелек 3 генерацияда дамиды. Топыраққа отырғызылған көшетке екінші генерациядағы үш жастан алты жасқа дейінгі жұлдызқұрттар зиян келтіреді. Олар сабақты сақиналандыра отырып, өсу нүктесін зақымдайды [14].

Колорад қоңызы – *Leptinotarsa decemlineata* Say. Колорад қоңызы республикада картоп егілетін барлық жерде таралған, олар қызанақ, баялды және тағы басқа алқа тұқымдастарына зиян келтіреді. Қоңыздың ұзындығы 9-12 мм, денесі дөңес сопаша: алдыңғы арқасы мен қанатының асты сарғыш немесе сарғыш-қызыл. Жұмыртқа ұзындығы 1,2-1,8 мм, ұзынша-сопақ, жылтыраған, алдымен сары, содан кейін қызғылт сары. Дернәсіл ұзындығы 15-16 мм, дөңес, сарғылт-қызыл; қуыршақ ұзындығы 10-12 мм, сарғылт-сары немесе қызғылт.

Қоңыздар жүк тасымалымен, топырақпен, егілетін материалмен белсенді ұшу арқылы таралады. Колорад қоңызы өте тамақсау болып келеді. Үлкен жастағы жиырма бес дернәсіл бір тәулік ішінде түптегі бүкіл жапырақпен қоректені алады [15].

Мақта көбелегі – *Helicoverpa armigera* Hubn. Қызанақтың өте қауіпті зиянкестерінің бірі. Көбелектің қанат пәрмені 30-40 мм, алдыңғы қанаттары ақшыл-сарыдан қоңыр-қошқыл түсті, ал артқылары ашық түсті.

Ұрғашылар жасылдау, жартылай сфералы жұмыртқаларын дақылдық өсімдіктердің де, арамшөптердің де жапырақтарының бет жағына жалғыздан немесе кішігірім топтап басады. 3-10 күннен кейін (температураға байланысты) жұлдызқұрттар шығады, ересек жұлдызқұрттың ұзындығы 50 мм-ге дейін. Жұлдызқұрттар түсі жағынан өзгергіш келеді, күлгін, жасыл, арқасында төрт жасыл-сұр сызығы бар қара түстілері кездеседі. Олар жапырақты, гүл қауызын, гүлдерді және өсімдік жемістерін, әсіресе, жеміссабағынан жеміске кіре отырып қызанақтарға үлкен зиян келтіреді.

Жұлдызқұрттар 15-тен 30 күнге дейін өсімдіктерде қоректеніп, өмір сүреді; дамуы аяқталған соң жерге кіріп сонда қуыршаққа айналады. Қуыршағы қара-қоңыр немесе қоңыр түсті, ұзындығы 15-22 мм. 12-14 күннен соң мақта көбелегінің жана ұрпағы ұшып шығады. Қазақстанның оңтүстігінде зиянкес 3-4 ұрпаққа дейін дамиды [16].

Қырыққабаттың негізгі зиянкестерінің сипаттамасы. Қырыққабат биті – *Brevicoryne brassicae* L. Кең таралған. Бұл ұзындығы 1,9-2,3 мм болатын ұсақ сорғыш бунақдене. Ол республиканың оңтүстік және оңтүстік-шығысында аса зиянды. Партоногенетикалық ұрғашылардың екі формасы бар – қанатсыз және қанатты. Қанатсыз ұрғашылар сарғыш-жасыл түсті, денесі жұмыртқа тәрізді формалы. Олар ұрықтанусыз көбейеді. Көктемде жұмыртқа басып, одан дернәсілдер шығады. 10-14 күннен кейін ересек ұрғашыларға айналады.

Қырыққабат көбелегі – *Barathra brassicae* L, шөл аймағынан басқа жақтарда кеңінен таралған. Жұлдызқұрттары көпулы, алайда қырыққабатты зақымдайды. Қырыққабат көбелегі оңтүстік және оңтүстік-шығыстың таулы аудандарында бір ұрпақта тарайды, оңтүстік және оңтүстік-шығыстың тау етектерінде екі ұрпақ, ал ауданның жазық жерлерінде екі-үш ұрпақ дамиды.

Көбелектердің ұзындығы 20 мм, қанаттарының пәрменімен 50 мм шамасында, қоңыр-сұр түсті.

Жұмыртқаларын жапырақтардың астыңғы бөлігіне салады. Салған жұмыртқалардың саны 1-ден 500 жұмыртқаға дейін, орташа есеппен 33 жұмыртқа болады.

Көбелектердің тұқымдылығы 300-ден 2000 жұмыртқаға дейін. Жұмыртқалардың даму ұзақтығы 4-9 күн, жұлдызқұрттардыкі – 24-50 күн, қуыршақтардыкі – 12-30 күн. Туылған жұлдызқұрттар жасыл-сұр түсті. Ересек жұлдызқұрттар қошқыл, ұзындығы 50 мм-ге дейін.

Басында олар бірге жапырақтың астыңғы жағындағы ұлпасымен қоректенеді; үш жастан бастап өсімдік бойымен жүріп, жапырақ бетінде дұрыс емес пішін қалдыра отырып тесіп тастайды. Жапырақтар қатты зақымдалғанда қырыққабаттың түсімі тез төмендеп кетеді.

Қырыққабат көбелегінің жұлдызқұртының зияндығы қырыққабат жапырақтарымен қоректенуімен ғана шектелмейді, дұрыс пішінге келген қауданның мөлшеріне де теріс әсер етеді. Олардың тигізетін үлкен қаупі қаудандарға ене отырып, оларды экскременттермен ластап, өнімнің сапасын төмендетеді. Жұлдызқұрттармен зақымдалған қаудандар тағам ретінде қолдануға жарамсыз, тауарлық түрін жоғалтады [17].

Қырыққабат күйесі – *Plutella maculipennis* Curt. Жаппай таралған. Қазақстанның оңтүстік және оңтүстік-шығыс облыстарында 5-8 ұрпақ дамытып өте ауыр зиян келтіреді. Бұл қанат пәрмені 14-17 мм болатын ұсақ түн көбелегі. Көбелектің артқы қанаттары сұр түсті, жіңішке, ланцет тәрізді, өте ұзын шашақты. Алдыңғы қанаттары қошқыл-сұр, сарғыш немесе қоңыр өңді, кішірек шашақтары бар.

Ұрғашылар жұмыртқаларды жапырақтың астыңғы жағына салады, әдетте бірден немесе аздаған топпен салады. Жұмыртқасы сопақша формалы мөлшері 0,4-0,5 мм, ашық сары түсті. Жаңадан шыққан жұлдызқұрттар жасыл түсті, өте қозғалмалы, ұзындығы 9-12 мм. Олар эпидермисін қалдыра отырып жапырақты кеміреді, нәтижесінде жапырақта саңылаулар пайда болады. Қаудан оралу кезеңінде жас жұлдызқұрттар жоғарыдағы жапырақтарын зақымдайды. Қатты зақымдалғанда қаудандар пайда болмайды [18].

1.4 Қабыршаққанатты көбелектер және таралу ареалдары мен зияндылығы

Жапырақ ширатқыш (*Tortricidae* немесе *Olethreutidae*) — *Microlepidoptera* тобының көбелектер тұқымдасы. Олардың 10 000 астам түрі бар. Жапырақ ширатқыштар келесі белгілерімен сипатталады: мұртшалары қылшық тәрізді,

аталықтарында жіңішке кірпікті; бізтұмсығы қысқа, иректелген (спиральді), кейде дамымаған, қармауышсыз; жақ қармауыштары 3-буынды, ортаңғысы аса ұзындау. Қанаттары тыныштықта шатыр тәрізді бүктелген (жинақталған), жоғарғылары кейде ұзынша-үшбұрышты; қанаттары ашылғанда 4-бұрышты болады, 12 жіпшелі (талшықты), оның ішіндегі шеткі біреуі айыр тәрізді екіге бөлінген. Артқы қанаттары кең, үшбұрышты, 6 немесе 7 сопақша талшықты қыстырғышымен және 3 ішкішетті, ортаңғысы айыр тәрізді екіге бөлінген. Жапырақширатқыштардың жұлдызқұрттары 16-аяқты, жалаңаш деседе болады, сирек талшықты, қоңыр немесе қара басты, сарғыш немесе қызғылт ақ немесе жасылдау. Қуыршақтарының құрсақ сақиналары ілгекті белдікшелі. Көпшілік жапырақ ширатқыш көбелектердің жұлдызқұрттары әртүрлі өсімдіктер жапырақтарымен қоректенеді, жеген жапырақтарын тормен орап байлап тастайды, ішінде өздері жасырынады (атауы да осыдан қалыптасқан); олар сыртқа шығысымен ауада торларда ілініп тұрады

Алманың жапырақ кеміргіш зиянкестері, соның ішінде жапырақ ширатқыш көбелектер жекелеген жылдары Қазақстанның оңтүстік-шығысында көп мөлшерде таралғанымен олар жеткілікті мөлшерде зерттелмеген. Жүргізілген жұмыстар фрагментарлы, сипатты-инвентаризациялық сипатта. Жапырақширатқыш көбелектер фаунасы соңғы жылдарға дейін кейбір түрлердің зияндылығы жөніндегі қысқаша мәліметтерді сипаттаумен шектелді. Раушан гүлді, долана, жасыл, бүршік жапырақ ширатқыш көбелектерінің морфологиясы, таралуы мен биологиясы жөніндегі мақалалар Қазақстанда тек 1987 ж. басталды. Жапырақ ширатқыш көбелектер (емен, липовая, алтынды немесе раушан гүлді) туралы қысқаша мәлімет бұрынғы КСРО ның Еуропа бөлігінде тек бір ғана жұмыста келтірілген. Жапырақ ширатқыш көбелектердің қарақатқа зияндылығы, алма бақтарында таралуы жөніндегі мәліметтер Короткованың еңбектерінде келтірілген [19].

Қазақ ӨҚҒЗИ-ның ғылыми есептерінде келтірілген мәліметтерге сүйенсек (1996 ж.) Алматы облысының жемісті аймағында жапырақ ширатқыш көбелектердің сан мөлшері 1993-1994 жж. әр ағашта долана жапырақ ширатқыштары 21,2-ден 21,4 дейін, раушан жапырақ ширатқышы 17,7-ден 23,6 дейін, және жасыл жапырақ ширатқыштар 2 ден 10,3 даракқа дейін артқан

Долана жапырақ ширатқыш көбелегі бұрынғы КСРО-ның Еуропалық бөлігі Қырым мен Закавказьеде таралған. М.М. Исиннің мәліметтері бойынша Қазақстанның оңтүстік-шығысында жапырақширатқыш көбелектер айтарлықтай зиян келтіреді [20].

Раушан жапырақ ширатқыш көбелектері жаппай, бұрынғы КСРО-ның еуропалық бөлігінде де, Қазақстанның, Қырғызстанның және Түркменстанның таулы ормандарында да таралған. Жапырақширатқыш көбелектердің жұлдызқұрттары көбінесе емен, шегіршін, қайың, шаған, үйеңкі, терек және көптеген жеміс ағаштарының жапырақтарымен қоректенеді.

Жоғарыда келтірілген әдеби мәліметтерді қорытындылай келе жапырақ ширатқыш көбелектер аса зиянды бунақденелер болып табылатындығына көз жеткізуге болады.

Жеміс дақылдарына жапырақ ширатқыш көбелектер айтарлықтай зиян келтіреді. Бұрынғы КСРО белгілі жапырақ ширатқыштардың 1200 түрінің 50-60 бақтарда тіркелген. Бүршіктерді, гүлшоғырларын, жапырақтарды және жемістерді зақымдай отырып олар тек биылғы ғана емес, сонымен қатар келесі жылғы өнімді де күрт төмендетеді. Қырымда жапырақ ширатқыш көбелектер жыл сайын әртүрлі жеміс дақылдарының бүршіктерін 10-нан 30 % дейін, жапырақтарын 20-дан 100 % дейін және өнімдерін 10-нан 60 % дейін зақымдайды. Кей жылдары жапырақширатқыштар жапырақтарды 25 % дейін жояды, ағаштарды әлсіретіп, жеміс түйідерін түсіреді. Олар жапырақпен қоса шешек атқан бүршіктер мен гүлшоғырларын да зақымдайды. Қазақстанда жапырақширатқыштардың бірнеше түрі кездеседі. Олардың ішінде бақтарға көп зақым келтіретіндері раушан гүлді және долана жапырақширатқыш көбелектері.

Қазақстанда раушан жапырақ ширатқыш көбелегі (*Cacoecia rosana* L.) кеңінен кездеседі, алайда бақ шаруашылығының оңтүстік аймағында, әсіресе Алматы облысының жемісті аймағында кіші жастағы жұлдызқұрттар ширатылған жапырақ ұштарында тіршілік етіп, оларды қаңқалап жейді; ересек жастағы жұлдызқұрттары жапырақтарды, кейде жемістерді де кеміреді. Зиянкестің сан мөлшері көп болған жылдары көктемгі есепте орташа алғанда бір ағашта 8,3 дейін жұмыртқа ұяшығы, ал аз болған жылдары 2,7 ұяшықтан болды [21].

Жұлдызқұрттарынан келетін зиян анағұрлым жоғары. Олар бүршіктерді, гүлдерді, түйіндерді және жемістерді зақымдай отырып ағымдағы жыл өнімінің саны мен сапасын төмендетеді. Жапырақширатқыштар зақымдау барысында жапырақ беті мен өскіндері жойылған ағаштар әлсізденеді және жеміс бүршіктерінің қалыптасуы да нашарлайды.

Жапырақ ширатқыш көбелектердің көпқоректі жұлдызқұрттары бақтарда алманы, алмұртты, шиені, алхорыны, долананы, ырғайды; орманда – мойылды, шетенді, орманжаңғақты, еменді, жөкені, шағанды, талды, шегіршінді, үйеңкіні және т.б. зақымдайды. Кейбір ағаштарда ұшар басының жалаңаштануы 90% жетуі мүмкін. Жұлдызқұрттар бүршіктерді, гүлшанақтарды және гүлдерді зақымдайды. Алмада, алмұртта және алхорыда жеміс түйіндері мен әлі піспеген жемістерді зақымдайды [22].

Алма күйе көбелегі *Nyponomeuta malinellus* Zell. Қазақстанның өнеркәсіптік бақтар аймағындағы зиянкестердің бірі, 1 ұрпақта дамиды, бірқатар зиян келтіретін бунақдене. Географиялық таралуы: Батыс Еуропаның орталығы мен оңтүстігінде кеңінен таралған. СССР кезінде ареалы еуропалық бөлікпен шектелген болса (солтүстігінде Ленинград облысына дейін), қазір Каваказ, Қазақста, Орталық Азияға тараған [23].

Көп түсті күрең-қара көбелектің (*Nymphalis xanthomelas*) алдыңғы қанаттарының ұзындығы 3 см-дей. Қанаттарының беткі жағы күрең-қызыл қара дақтарымен. Басқа көбелектерден айырмашылығын айыру қиынырақ. Олардың басты ерекшеліктері қанат бетіндегі қара дақтар. Сонымен қатар бұл көбелектердің қанаттары түзу емес, тістері көп және ірі. Қоректенетін

өсімдіктері: талдар, терек, шегіршін, жемісті ағаштар. Көбелектер ағаштың шырынымен қоректенеді.

Жұлдызқұртының негізгі зияны тал көшеттерін зақымдауы. Зияндылығы көшеттердің сәніне және өсуіне негізделген, кей жағдайларда ағаштар мен тал бұтақтарының өлуіне әкелуі мүмкін. Көп түсті күрең-қара көбелектердің массалық көбею ошағының пайда болу себептері ағаштардың әлсіреуі және санитарлық жағдайларының төмендеуі болып табылады [24].

1.5 Қазақстанда зиянды бунақденелілерге қарсы күресте *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясын қолдану

Қазақстанда 1962 жылы микробиология және вирусология институтында М.В. Яловицин мен ҚазӨҚЖКҒЗИ-да Л.М. Мосиевская алғаш кристалл түзуші бактерияларды бөліп алды. Авторлар зиянды жәндіктерге вирулентті бациллаларды жапырақ жегі, алма күйе көбелегі жұлдызқұрттарынан және т.б. табиғи эпизотияда өлген жәндіктерден бөліп алған. Білімдерінің деңгейіне сәйкес бактериялардың қасиеттері зерттелді, түрі анықталды, емен жапырақ жегісінің негізіндегі штамнан аздаған мөлшерде ВТС бактериалды препараты жасалды [25].

Жасалған жұмысты Қазақстандағы осы топтағы микроорганизмдерді зерттеудің басталуы ретінде қарастыруға болады (серотиптер таралуының спецификалары, биологиялық қасиеттерінің ерекшеліктері, әсер ету спектрі, аса вирулентті немесе токсигенді штамдарды іріктеу және т.б.). Алайда аталған авторлармен бөлініп алынған штамдар, кейінірек жоғалып кетті. Дегенмен қазір осы облыста мамандар отандық жоғары вирулентті штамдармен жұмыс істеуде көптеген күштерін жұмсауда.

Қазақстан Республикасының ҰҒА микробиология және вирусология институтында өсімдіктің аурулары мен зиянкестерімен күресіде эффективті биопрепараттар шығару негіздемелері жасалған

Алматы облысы Іле ауданы Ынтымақ селосында ағаш көшеттерін тексеру кезінде ҚазӨҚЖКҒЗИ-ның жеміс-көкөніс және орман дақылдарын қорғау бөлімінің қызметкерлері 2004-2005 жылдары үйеңкі ағашынан американдық ақ көбелектің 100 % өлген жұлдықұрттарының ұясын тауып алады. Зиянкестің өлу себебін анықтау үшін ҚазӨҚЖКҒЗИ-ның биотехнология зертханасында және ИСЖЭЖ СО РАН-ның бунақденелілер патологиясы зертханасында микробиологиялық зерттеулер тыңғылықты түрде жүргізілген. Ауырған жұлдықұрттардан кристалл түзуші *Bt* subsp. *kurstaki* бактериясының штамдары идентификацияланып, бөлініп алынды. Бөлініп алынған 2127-3к штамының биологиялық эффективтілігі эталон болып табылатын лепидоцидтің продуценті – Z-52 штамынан 1,5-3 есе жоғары болды [26].

Бүгінгі күні зиянды бунақденелілерді микробиологиялық бақылаумен «Қазақ өсімдік қорғау және карантин ғылыми зерттеу институты» ЖШС айналысады.

2 Зерттеу материалдары мен әдістемелері

Зерттеу объектілері – Қазақстанның түрлі табиғи аймақтарындағы өлі жәндіктерден және топырақтан бөлініп алынған *Bacillus thuringiensis* энтомопатогенді бактериясының коллекциялық штамдары: БТ-1, БТ-2, БТ-3, БТ-4 және ВТ₁-12 штамы.

Bacillus thuringiensis штамдарының уыттылығын және инсектицидті әсерін бақылау үшін тест-объекті ретінде қолданылған нысандар (1-сурет):

- 1 Жапырақ ширатқыш көбелегінің жұлдызқұрттары (*Archips crataegana*).
- 2 Алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттары (*Hyponomeuta malinella*).
- 3 Көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттары (*Nymphalis xanthomelas*).



а)

б)

в)

1 Сурет - Қабыршаққанатты зиянкестердің жұлдызқұрттары а) – алма күйе көбелегі жұлдызқұрты, б) – жапырақ ширатқыш көбелектің жұлдызқұрттары, в) – көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттары

Қабыршаққанатты көбелектердің таралуын анықтау үшін Алматы облысының Іле Алатауы етегінде орналасқан жеміс бақтары мен саябақтарға және Баума атындағы тоғайында бағыттық бақылаулар жүргізілді (2-сурет).

Зерттеулер энтомологияда, биотехнологияда қолданылатын жалпылама әдістемелер бойынша жүргізілді.

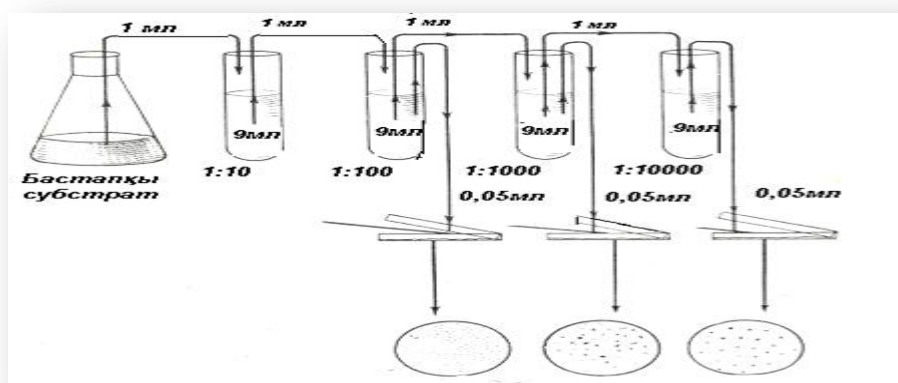


2 Сурет – Зиянкестерді жинау барысы

2.1 Тіршілікке қабілеттілігіне байланысты коллекциялық штамдарды іріктеу (скрининг)

Біраз уақыт сақталған соң дақылдардың тіршілікке қабілеттілігін тексеру қажет. Қоректік орта бетіндегі клеткалар санын анықтау үшін Кохтың әдісі қолданылды; әрбір колония бір клетканың ұрпағы деп есептелді. Микроорганизмдер санын Кох әдісімен есептегенде клетка санын көрсетпейді, колония түзу бірлігінде көрсетіледі (КТБ).

Микроорганизм санын анықтау үш кезең бойынша стандартты методика бойынша жүргізілді: сұйылту дайындау; қоректік ортасы бар Петри табақшаларына егу; өсіп шыққан колонияларды санау (3-сурет).



3 Сурет – Кох әдісі

2.2 Энтмопатогенді бактерияларды әртүрлі қоректік орталарда өсіру процесі

Бактерияларды өсіруде аса тиімді қоректік ортаны таңдау үшін құрамы әртүрлі сұйық қоректік орталарда микроорганизмдерді өсірдік. Ол қоректік орталар: «ДПС», «СКС», «ЛБ», «ПА».

Культуралды сұйықтықтың спора титрін Горяев камерасында санадық.

Горяев камерасы – белгілі көлемдегі сұйықтықтан элементтер (клетка, спора) санау үшін арналған құрал, торшалары бар заттық шыны.

Клеткалар санын үлкен шаршылардан санайды. Шаршының ішіндегі барлық клеткалар саналады [27].



4 Сурет – Штамдарды шайқағышта культивирлеу

Спораларды үлкен шаршылардан санайды. 1 мл суспензиядағы спора титрін келесідей формула бойынша есептейді

$$T = \sum \text{спора} \cdot 50 / k \cdot 5000, \quad (1)$$

мұндағы T – 1 мл-гі спора титрі;

\sum спора – үлкен шаршыда саналған споралар жиынтығы;

k – үлкен шаршыда саналғандар саны.

2.2.1 Зертханалық ферментерда культуралды сұйықтық алу

Зертханалық ферментерда культуралды сұйықтық алу үшін ЛБ қоректік ортасы қолданылды. Құрамы келесідей болды (г/л): пептон – 10,0; ашытқы экстрактісі – 5,0; NaCl – 5,0; көбік басқыш 0,1 % (қоректік орта көлеміне қарай), дистилденген су – 1 л-ге дейін.



5 Сурет – Зертханалық ферментер

Зертханалық ферментерде өсіргенде орта рН-ы, температура, көбік басқыш автоматты түрде реттеледі (5-сурет).

2.3 Бактерияның морфо-культуралдық ерекшеліктерін зерттеу әдістері

Дақылдардың морфологиялық қасиеттері – клеткалардың пішіні, көлемі, клеткалардың орналасуы, спора мен кристалл түзуі, эозинмен, үш түсті бояу, карболол фуксинімен боялу, құрылымы бойынша зерттеледі. Микроскопиялық зерттеулер (жаншылған тамшы препараты, және эозинмен, үш түсті бояу, карболол фуксинімен боялған препараттар) жалпы микробиологиялық әдістемелер бойынша МЕІҮІ ТЕСНО МТ-6300 микроскопымен жүргізілді. Жұмыс барысында микробты популяциясының клетка санының динамикасын Горяев камерасында тікелей санау жолымен анықталды.

Бояу дайындалған соң бір тәуліктен кейін қолдануға жарамды. Бекітілген жағындыға заттық шыныны жабатындай етіп пипеткамен бояу жағады. 2-3 мин аралығында бояйды. Содан соң бояуды қараңғы шынысы бар ыдысқа төгеді. Заттық шыныдағы жағындыны дистилденген сумен шайып, кептіреді. Кристаллдары таңқурай түске боялады, ал споралар боялмайды, тек жиектері қызыл болады.

2.4 Штамдардың биологиялық белсенділігін анықтау

Bacillus thuringiensis штамдарының насекомдарға уыттылығын, яғни биологиялық белсенділігін тексеру үшін әр түрлі бактерия дақылдары қолданылды. Ол үшін әр түрлі бактерия дақылдарынан сұйылтулар жасалды. Зертханалық жағдайда энтомопатогенді бактериялардың биологиялық белсендігін анықтау үшін колбаларда және ферменттерда өскен бактерия культуралары қолданылды. Ол үшін штамдарды ЛБ сұйық қоректік ортасында 28°C температурада 5-7 тәулік бойы өсіреміз, бекітілген препарат жасап дақылдың тазалығы мен спора, кристалдарын да қараймыз. Культураны стандарт бойынша сұйылтуды Том Гораев камерасында титрін есептейміз. Титрі 1×10^8 дәрежесінде есептеп тәжірибе жасаймыз. Дақылдың биологиялық белсенділігін анықтау үшін тәжірибелер өсімдіктердің (алма, қарағаш) жапырағына жасалынды. Жапыраққа дақыл сұйылтуын бүркіп, фильтр қағазында кептіреміз, өңделген бөлігін кептіріп болғаннан кейін изоляторлық дәкемен бетін жауып, 10 дана жұлдызқұрт орналасқан жерге саламыз. Тәжірибені 3 немесе 5 қайталаумен жасаймыз. 5 тәуліктегі өлімге ұшыраған жәндіктің мөлшері дақылдың вируленттік қасиетін көрсетеді.

Әр тәулікте өлі жапырақширатқыш жұлдыз құрттарды санап кептіруге қоямыз. Кепкен соң матрациктерге салып тоңазытқышқа қоямыз. Бұл жәндіктерден реизолят бөліп аламыз. Жас ерекшеліктеріне байланысты жапырақширатқыш жұлдыз құрттарға дақылдардың вируленттік қасиетіде әр түрлі болады [29].

Биологиялық эффективтілігін есептеу үшін Аббот формуласы қолданылды

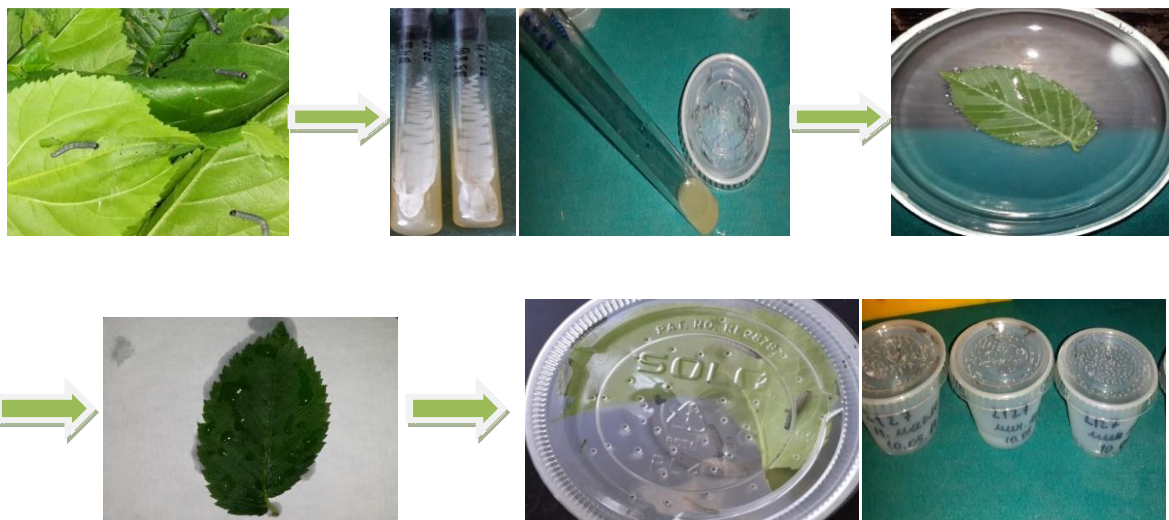
$$\mathcal{E} = \frac{A - B}{A} \cdot 100, \quad (2)$$

мұндағы Э – эффективтілік, тест-объектінің санының төмендеуінің пайызбен көрсетілуі;

А – есеп күнінде бақылаудағы тірі дарақтардың саны;

Б – есеп күнінде тәжірибедегі тірі дарақтардың саны.

Жұлдызқұрттар 25°C температурада 5-7 күн жәндікханада ұсталды, содан кейін өлуі пайызбен есепке алынды.



6 Сурет - Жұлдызқұрттарды зертханалық залалдау сұлбасы

3 Зерттеулер нәтижелері

3.1 Штамдарды тіршілікке қабілеттіліктеріне қарай іріктеп алу

Коллекциялық штамдарды іріктеп алу үшін дақылдардың тіршілікке қабілеттілігін тексеруде Кох әдісі қолдандық. Коллекциялық 10 штамнан іріктеу жүргізілді. Әрбір колония бір клетканың ұрпағы деп есептелді. Микроорганизм санын анықтау үш кезең бойынша стандартты методика бойынша жүргізілді: сұйылту дайындау; қоректік ортасы бар Петри табақшаларына егу; өсіп шыққан колонияларды санау.

1 Сұйылту дайындау. Сұйылту үшін 9 мл залалсыздандырылған құбыр суы пробиркаларға құйылды. Осыдан залалсыздандырылған пипеткамен 1 мл сұйықты алып келесі ішінде 9 мл суы бар дайын пробиркаға құйылды. Бұл 1-сұйылту, яғни 10^{-1} . Бұдан кейін басқа залалсыздандырылған пипеткамен осы бірінші сұйылтудан 1мл сұйықтықты алып келесі пробиркаға құяды. Сөйтіп екінші сұйылтуды алады, яғни ол 10^{-2} . Келесі сұйылтулар осы көрсетілген тәсілмен жасалды. Осылайша өзімізге қажетті сұйылтуды таңдап алдық. 5-ші сұйылту таңдадық.

2 Қоректік ортасы бар Петри табақшаларына егу. Егу үшін бірнеше Петри табақшасын алынды. Залалсыздандырылған қоректік ортасы бар табақшаларға көлемі анық өлшенген сұйылтудан 0,05 мл тамызып, қоректік ортаның бетін біркелкі етіп шпательмен жаймаланды. Әрбір сұйылтуға жаңа залалсыздандырылған шпатель колданылады. Егілген соң Петри табақшаларын төмен қаратып термостатқа қойылды.

3 Өсіп шыққан колонияларды санау. 1-2 тәулік өткен соң өскен микроорганизм дақылдарының колониясы саналды. Петри табақшасының бетін ашпай санаған жөн. Ыңғайлы болу үшін әрбір колонияға табақшаның сыртынан нүкте қойып отырады. Колония саны өте көп болған жағдайда Петри табақшасын төрт бөлікке бөліп, әр бөлікті санап шыққан сандарды қосады. Бір табақшада өсіп шыққан колонияларды санап, колониялардың орташа саны анықталды (7 Сурет).

1 мл зерттелетін субстраттағы клетка саны мына формула бойынша есептелді

$$M = \frac{ax10^n}{v}, \quad (3)$$

мұндағы M – 1 мл-дағы клетка саны;

a – егілген сұйылтудан өсіп шыққан колониялар саны;

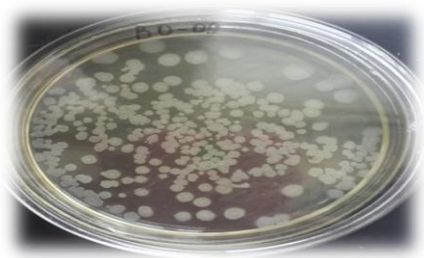
10 – сұйылту коэффициенті;

n – егуге қолданылған сұйылтудың реттік номері;

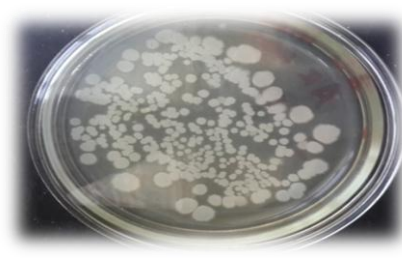
V – егуге алынған сұйылту көлемі мл-мен есептегенде.

Өсіп шыққан колонияларды санау: микроорганизмдерді санауды 3-4 күннен кейін микроскоптық анализ арқылы жүргізілді. Ең жақсы сұйылту

болып «А» ортада 30-50 колониядан 150-150 колонияға дейін өсіп шыққан, сұйылту болып табылады.



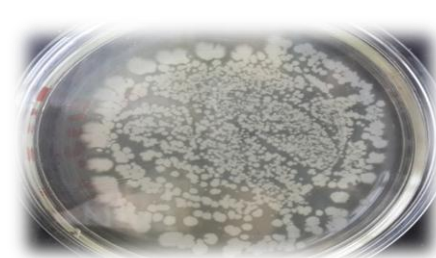
а)



б)



в)



г)

7 Сурет – Тіршілікке қабілеттілігін анықтағанда Петри табақшасына өсіп шыққан колониялар: а) - БТ-3; б) - БТ-4; в) – БТ-1; г) – БТ-2

1 Кесте – Коллекциялық штамдардың тіршілікке қабілеттіліктерін анықтау

Штамдар	Өсіп шыққан колониялар саны	Тіршілікке қабілетті споралар
BT ₁ -12	49	$9 \cdot 10^7$
Lac-12	35	$7 \cdot 10^7$
BT-1	152	$3 \cdot 10^8$
BT-2	85	$1 \cdot 10^8$
Lau-12	32	$6 \cdot 10^7$
BT-3	48	$9 \cdot 10^7$
LLd-12	29	$5 \cdot 10^7$
BT-4	125	$2 \cdot 10^8$
P-Bt	18	$3 \cdot 10^7$
Lac-12	19	$3 \cdot 10^7$

Зерттеуде 10 штамнан тіршілікке қабілетті 5 штамды іріктеу қажет болды. Ол үшін зертхана коллекциясынан 2012-2013 жылғы штамдар алынды. Штамдар ұзақ уақыт сақталған соң өздерінің тіршілікке қабілеттілігін төмендетіп алатындықтан, біз тіршілікке қабілетті 5 штамды тандап алдық. Ең жоғарғы көрсеткішті көрсеткен БТ-1 және БТ-4 штамдары. Олардан кейінгі

көрсеткіштерді көрсеткен 3 штамм алдағы тәжірибелерге таңдап алынды. Олар: ВТ₁-12, БТ-2 және БТ-3 штамдары (1 Кесте).

3.2 Әртүрлі қоректік орталарда өсірілген энтомопатогенді бактерияларды зерттеу

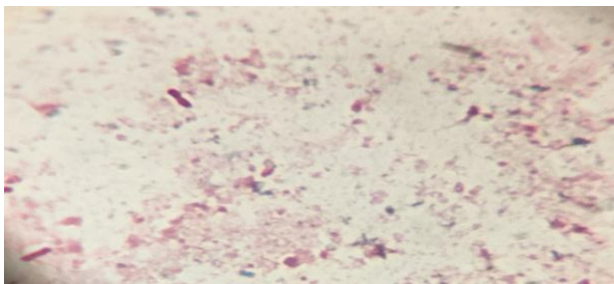
Аса тиімді қоректік ортаны таңдауда бактерияларды құрамы әртүрлі қоректік орталарда өсірдік. Энтомопатогенді бактерияларды өсіруде сұйық қоректік орталар дайындалды. 5-7 тәулік шайқағышта культивирленді. Әртүрлі қоректік орталарда өскен энтомопатогенді бактериялардың спора титрлері Том-Горяев камерасында саналды, вегетативті клеткалары, споралары және белокты кристалдары микроскоптан бақыланды.

2 Кесте – Қоректік орталар құрамы

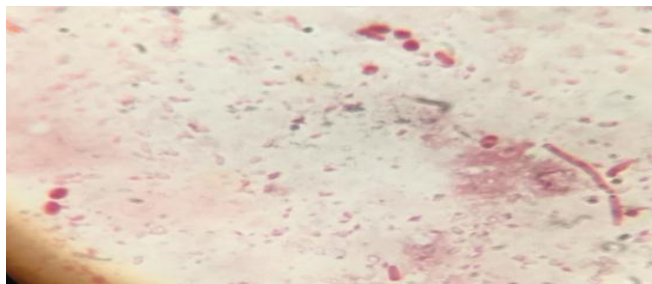
Қоректік орталар құрамы	ДПС	СКС	ПС	ЛБ
БВК ашытқысы	30,0			
Жүгері ұны	15,0			
CaCl ₂	1,5	1,5		
Соя ұны		20,0	10,0	
Картоп крахмалы		10,0	10,0	
Фосфорқышқылды аммоний		1,5	3,0	
K ₂ SO ₄		0,1		
MgSO ₄		1,3		
NaCl				5,0
Ашытқы экстрактісі				5,0
Пептон				10,0
Дистилденген су	1 литр			

3 Кесте - Том-Горяев камерасында спораларды есептеу

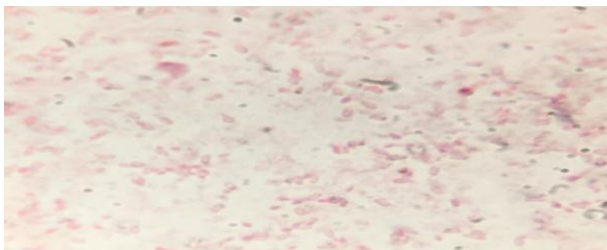
Штамдар	Спора титрі және қоректік орталар			
	ДПС	СКС	ПС	ЛБ
БТ-1	-	$7 \cdot 10^7$	$8 \cdot 10^7$	$2 \cdot 10^8$
БТ-2	-	-	$8 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^8$
БТ-3	-	$1 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$	$1 \cdot 10^8$
БТ-4	-	-	$8 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^8$
ВТ ₁ -12	-	$8 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^8$



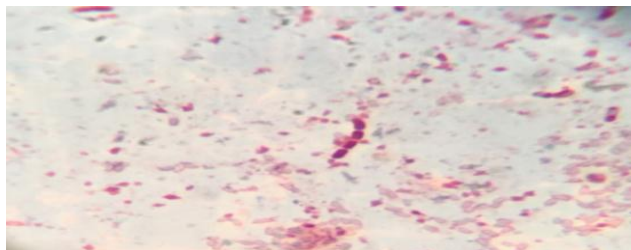
ДПС



ПС



СКС

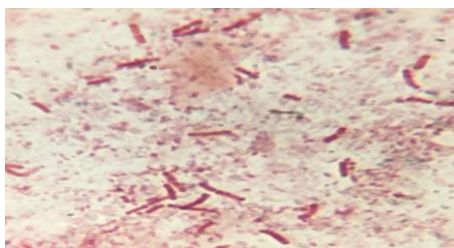


ЛБ

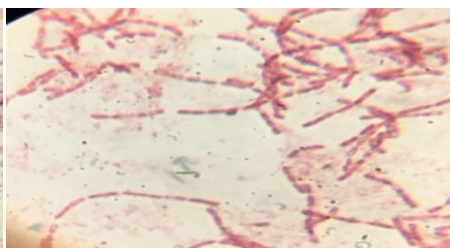
8 Сурет – Өртүрлі қоректік орталарда өскен БТ-1 штамын микроскоптау

ДПС - вегетативті клеткалары, споралары түзілген, кристалдары аз; ПС - вегетативті клеткалары, споралары бар, кристалдары ірі, өте көп түзілген, СКС - спора мен кристалдары түзілген, ЛБ - Споралары мен кристалдары өте көп, жақсы түзілген. Кристалдары ірі ромб тәрізді

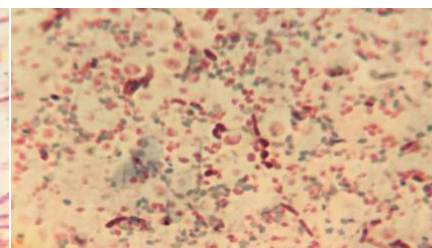
Өртүрлі қоректік орталарда өскен микроорганизм штамдары микроскоптан зерттелді. 5-7 тәулік сұйық қоректік орталарда өскен штамдар алынды. Микроскоптан зерттеу Пешков әдісі бойынша жүзеге асырылды. БТ-1 штамы 4 түрлі қоректік ортада өсті. 4 түрлі қоректік ортада вегетативті клеткалары, споралары және кристалдары үзілді. Кристалдар мен споралар ДПС қоректік ортасында нашар өсті. Микроорганизмдердің ең жақсы өсуі ЛБ және ПС қоректік орталарында болды (8 Сурет).



ПС



СКС

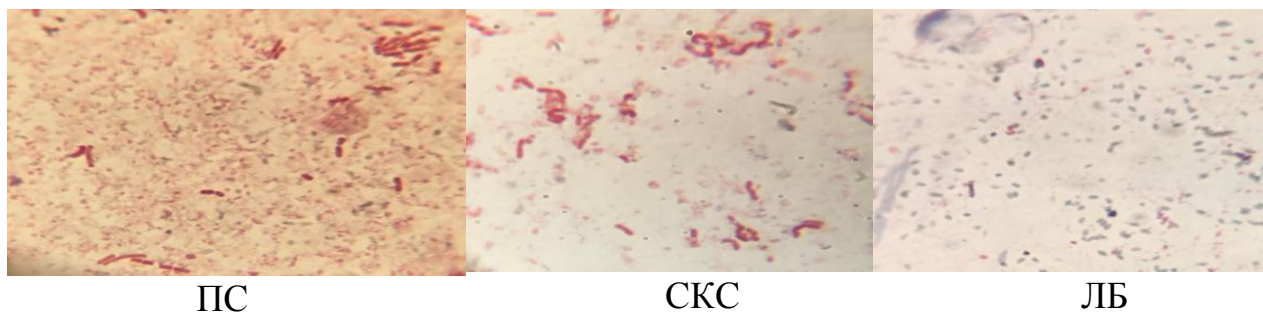


ЛБ

9 Сурет - Өртүрлі қоректік орталарда өскен БТ-2 штамын микроскоптау

ПС - вегетативті клеткалары, споралары бар, кристалдары өте көп шашыраған; СКС - Вегетативті клеткалары жақсы жетілген, споралары мен кристалдары байқалмады; ЛБ - спора мен кристалдары өте көп шашыраған, кристалдары орташа ромб тәрізді.

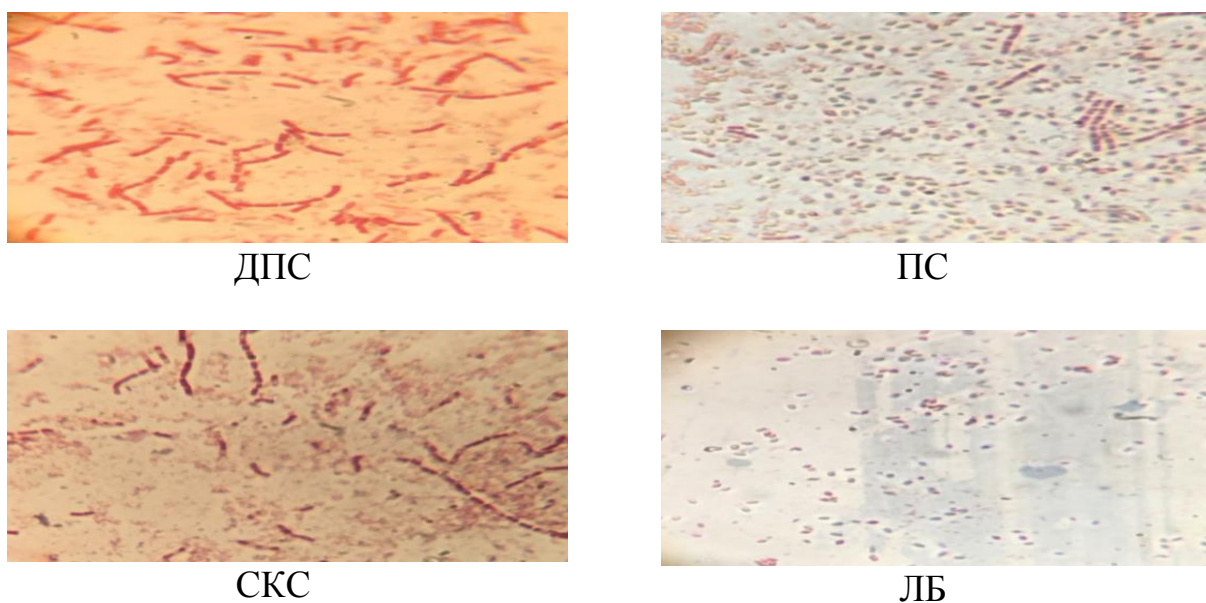
БТ-2 штамы ПС, СКС, ЛБ қоректік орталарында өсті. ДПС қоректік ортасында вегетативті клеткалар, споралар мен кристалдар микроскоптан байқалмады. Сондықтан бұл ортада БТ-2 штамы өспеді деген қорытындыға келдік. ПС және ЛБ қоректік орталарында споралар мен кристалдары жақсы түзілді. Ал СКС қоректік ортасында тек вегетативті клеткалар түзілді (9 Сурет).



10 Сурет - Әртүрлі қоректік орталарда өскен БТ-3 штамын микроскоптау

ПС - вегетативті клетка және кристалдар ұсақ шашыраңқы орналасқан; СКС - тек вегетативті клеткалар түзілген; ЛБ - споралар мен кристалдар түзілген

БТ-3 штамының 3 қоректік ортада өсуі байқалды. ПС және ЛБ қоректік орталарында споралары мен кристалдары жақсы түзілген болса, СКС ортасында тек вегетативті клеткалары байқалды. ДПС қоректік ортасында өспеді (10 Сурет).



11 Сурет – Әртүрлі қоректік орталарда өскен БТ-4 штамын микроскоптау

ДПС - спора мен кристалдар түзілмеген, тек вегетативті клеткалар, ПС - спора, вегетативті клеткалар және кристалдар жақсы түзілген; СКС - спора мен

кристалдар түзілмеген, тек вегетативті клеткалар; ЛБ - спора мен кристалдар түзілген, кристалдары ұсақ ромб тәрізді

БТ-4 штамы 4 түрлі қоректік ортада да өсті. ДПС пен СКС қоректік орталарында споралары мен кристалдары түзілуі байқалмады, тек вегетативті клеткалары көрініс тапты. Ал ЛБ және ПС орталарында кристалдары мен споралары жақсы байқалды (11 Сурет).

3.3 Энтмопатогенді бактериялардың дақылдық-морфологиялық ерекшеліктері

Микроорганизмдердің дақылдық ерекшеліктері қатты қоректік орталарда өсу белгілерімен анықталды. Әрбір микроорганизмге дақылдық қасиеттер тән болғандықтан, маңызды диагностикалық белгі болып табылады.

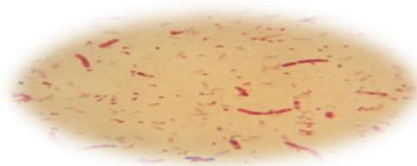
Қоректік ортаның бетіне өсіп шыққан колониялар пішіні, өлшемі, беті, түсі, колониялардың шеті, консистенциясы бойынша суреттелді.



12 Сурет – *Bacillus thuringiensis* штамының колониясының көрінісі

Дақылдар эозин ерітіндісімен боялды. Микроскоптау нәтижелері вегетативті клеткалары жағындыда бірітіндеп немесе тізбектеліп орналасқан ірі таяқша, споралары сопақша болатынын көрсетті. Вегетативті клеткалардың өлшемдері 0,8-1,5·3,5-5 мкм аралығында.

«А» қоректік ортасында бактерия дақылдарының колониясы дөңгелек, дұрыс емес пішінді (S – пішінді), сұрғылт-сарғыш түсті, тегіс пішінді, беті тегіс немесе бұдыр болды. Бөлініп алынған изоляттардың өлшемдері 0,7-1,7 см аралығында болды. Консистенциясы паста тәрізді (12 Сурет).



13 Сурет – *Bacillus thuringiensis* штамының вегетативті клеткаларының көрінісі (x100)

Морфологиясы Пешков әдісі бойынша бояумен анықталды. Заттық шыны бетіне дистилденген су тамызып бетіне тұзақпен бактерия дақылын жағып, ауада кептіріп, спирт шам жалынынан өткізіп бекітілді. Сосын бетіне Леффлер бойынша метилен көгін тамызып, 3 мин бетінде буы шыққанша спирт шам жалынында ұсталды. Содан соң сумен шайып, үстіне сафронин қызылын тамызып 1 мин ұстап, сумен шайып, иммерсиялық май тамызып қарадық. Спора өлшемі 0,8·1,3 мкм. Дақылдар екі типті кристаллдар түзеді: ірі бипирамидалы және ұсақ шаршы тәрізді. 28-30°C термостатта 5-6 тәулік өскен соң споралар мен кристаллдар толығымен түзіледі (13 Сурет).

3.4 Қабыршаққанатты зиянкестерге қарсы штамдардың биологиялық белсенділіктері

Bacillus thuringiensis штамдарының жәндіктерге уыттылығын, яғни биологиялық белсенділігін тексеру үшін әр түрлі әдіспен сақталған бактерия дақылдары қолданылды. Ол үшін әр түрлі әдіспен сақталған бактерия дақылдарынан сұйылтулар жасалды. Штамдардың спора титрі $1 \cdot 10^7$ құрады. Дайын болған суспензияларға жапырақтарды малып, 2-3 жасар жұлдызқұрттарға беріп, ауа кіретін тесіктері бар стақандарға салынып, қолайлы орта жасалды. Әр стақанға 10 жұлдызқұрттан салынды. Әрқайсысы үш қайталаудан жасалды. Жұлдызқұрттар күнделікті бақыланып отырылды, 5-7 күн 25°C температурада ұсталды. Содан кейін өлген жұлдызқұрттар пайыздық көрсеткішпен тіркеледі.

Тәжірибе қойылған соң күн сайын жұлдызқұрттар бақылауға алынып, күнделікті қарағаш немесе алма жапырақтары салынып отырды. 1, 2-ші тәуліктен бастап өлгендері тіркеліп отырды. Тәжірибе ұзақтығы 5 күнге созылды. Өлген жұлдызқұрттардың денесінің түсі қарайып, ұстағанда езіліп тұрды. Содан кейін олар бөлме температурасында 2-3 тәулік кептірілді. Құрғап, кепкен жұлдызқұрттар жастықшаларға (матрасик) салынды.

Зерттеудің соңғы кезеңінде штамдардың жапырақ ширатқыш көбелектің жұлдызқұрттарына, алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына және көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттарына қарсы уыттылығы тексерілді. Жүргізілген зерттеулер көрсеткендей барлық нұсқаларда жұлдызқұрттардың өлуі бақылауға қарағанда айтарлықтай жоғары болды (14, 15, 16 Суреттер).

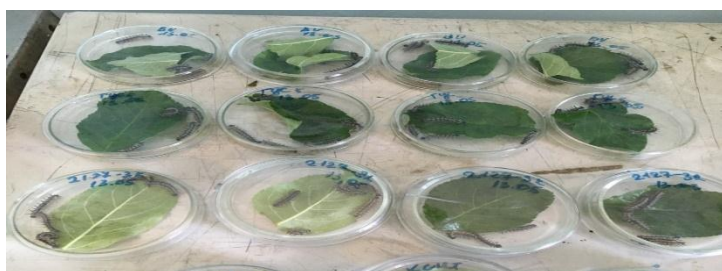
Әр тәулікте өлі жұлдызқұрттарды санап кептіруге қоямыз. Кепкен соң матрациктерге салып тоңазытқышқа қоямыз. Жас ерекшеліктеріне байланысты жұлдызқұрттарға дақылдардың вируленттік қасиеті де әр түрлі әсер етеді.

Штамның вируленттік қасиетін анықтау әсер ету уақыты мен өлі жәндіктердің санымен есептелініп көрсетіледі. Жәндіктердің штамм әсерінен өлгенің белгілері олардың денесі қап-қара болып денесі езілінкілеп қалады.

Штамдардың биологиялық белсенділігі 2-3 жастағы жапырақ ширатқыштардың жұлдызқұрттарына қарсы бағаланды. Қолданылған спора титрі $1 \cdot 10^8$ спора/мл.



14 Сурет – Тәжірибеге қойылған жапырақ ширатқыш жұлдызқұрттар



15 Сурет – Тәжірибеге қойылған көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттары



16 Сурет – Тәжірибеге қойылған алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттары

Жапырақ ширатқыш жұлдызқұрттарға қарсы штамдардың биологиялық белсенділігі бақылауға карағанда едәуір жоғары болды (14-сурет). Зиянкестердің өлуі бірінші тәуліктен бастап бақыланып, өлгендері күнделікті есепке алынып отырды. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей ең жоғары нәтижені эталон есебінде алынған БТ-1 штаммы және БТ-2 штаммы көрсетті. 3-ші тәуліктің өзінде бұл штамдар 85 %, 95 %, ал төртінші тәулікте 100 % белсенділікті көрсетті. Қалған штамдардың да биологиялық белсенділігі төмен болмады. Зерттеудің соңғы күнінде, яғни бесінші күні 85-95 % аралығында болды (4 Кесте).

4 Кесте – Штамдардың жапырақ ширатқыш жұлдызқұрттарға қарсы биологиялық белсенділігі (зертханалық тәжірибе), спора титрі $1 \cdot 10^8$

Штамм	Жұлдызқұрттардың өлуі, тәулік, %				
	1	2	3	4	5

БТ-1	25,0±6,45	45,0±9,57	85,0±5,0	100	100
БТ-2	45,0±2,88	90,0±5,77	95,0±5,0	100	100
БТ-3	12,5±2,5	65,0±5,0	65,0±5,0	82,5±8,53	95,0±2,88
БТ-4	15,0±2,88	27,5±4,78	45,0±8,66	65,0±12,58	85,0±8,66
ВТ2-12	17,5±4,78	32,5±8,53	70,0±7,0	87,5±6,29	90,0±4,0
Бақылау	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ЕЕқ	11,346	19,018	17,154	19,962	12,130

Зертханалық тәжірибе көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдықұрттарына қарсы қойылды. Екінші тәуліктен бастап бақылауға алынды. Күнделікті жапырақтары жаңартылып салынып отырды. Бұл көбелектің жұлдызқұрттарына да штамдар жоғары белсенділікті көрсетті. 2-ші тәуліктің өзінде БТ-1 пен БТ-2 штаммы 60-62,5 % болды. БТ-3, БТ-4, ВТ2-12 штамдары бесінші тәулікте 85-87,5 % көрсетті. Бақылауда жұлдықұрттар тірі күйінде болды (5 Кесте).

5 Кесте - Штамдардың көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттарына қарсы биологиялық белсенділігі (зертханалық тәжірибе), спора титрі $1 \cdot 10^8$

Штамм	Жұлдызқұрттардың өлуі, тәулік, %			
	2	3	4	5
БТ-1	62,5±4,78	97,5±2,5	97,5±2,5	100
БТ-2	60,0±4,0	97,5±2,5	97,5±2,5	100
БТ-3	12,5±4,78	37,5±6,29	85,0±9,57	85,0±9,57
БТ-4	27,5±4,78	60,0±4,0	77,5±4,78	87,5±2,5
ВТ2-12	25,0±2,88	55,0±5,0	85,0±5,0	87,5±5,0
Бақылау	0,0	0,0	0,0	0,0
ЕЕҚ	11,745	11,745	14,959	12,380



а)

б)

17 Сурет – Көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттары:
а – бақылау; б – тәжірибеде өлген жұлдызқұрттар

17 суретте көрсетілгендей бақылаудағы жұлдызқұрттар жапырақтарды сабағына дейін кеміріп тастаған. Шапшаң қимылдап, қоректенуде. Ал өлген жұлдызқұрттар денелері қарайып, ұстағанда езіліп тұрды. Өлген жұлдызқұрттарды кептіріп, жастықшаларға орналастырдық.

Алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына қарсы зертханалық және танаптық тәжірибелер қойылды. Зертханалық тәжірибеде штамдардың спора титрі $1 \cdot 10^7$ болды.

Алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына қарсы зертханалық тәжірибе бірінші тәуліктен бастап бақылауға алынды. Бақылауда жұлдызқұрттардың өлуі байқалмады. Бұл зерттеуде ең жоғары көрсеткіш БТ-2 штамында болды, үшінші тәулікте 100 % көрсетті. БТ-3 штамы 1-ші тәулікте небәрі 3,33 % көрсетіп, 5-ші тәулікте белсенділігі 80 % жетті (6 Кесте).

6 Кесте - Штамдардың алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына қарсы биологиялық белсенділігі (зертханалық тәжірибе), спора титрі $1 \cdot 10^7$

Штамм	Жұлдызқұрттардың өлуі, тәулік, %				
	1	2	3	4	5
БТ-1	53,3±3,33	66,6±17,63	83,3±12,0	96,6±3,33	96,6±3,33
БТ-2	33,3±3,33	86,6±6,66	100	100	100
БТ-3	3,33±3,33	16,6±3,33	46,6±3,33	76,6±33,3	80,0±5,77
БТ-4	23,3±3,33	63,3±3,33	86,6±3,33	93,3±6,66	93,3±6,66
ВТ2-12	43,3±3,33	66,6±3,33	62,6±27,33	96,6±3,33	96,6±3,33
Бақылау	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
ЕЕҚ	9,376	24,807	18,026	11,094	12,579

ҚОРЫТЫНДЫ

Зерттеулердің нәтижесінде келесідей қорытындыларға келдік:

1 Тіршілікке қабілеттілігіне байланысты іріктеу жүргізіліді. тіршілікке қабілетті 5 штам таңдап алынды. Ең жоғарғы көрсеткішті көрсеткен БТ-1 және БТ-4 штамдары. Олардан кейінгі көрсеткіштерді көрсеткен 3 штам алдағы тәжірибелерге таңдап алынды. Олар: ВТ₁-12, БТ-2 және БТ-3 штамдары.

2 Дақылдардың морфологиялық қасиеттерін зерттеуде спора, кристалл түзу қабілеттері жақсы байқалды. Пешков әдісімен бояғанда споралары сопақша көк түске боялды, ал кристаллдары қызыл түске боялды, ұсақ және ірі ромб тәрізді болды.

3 Жүргізілген зерттеулер *Bacillus thuringiensis* штамдары «ЛБ» және «ПС» қоректік орталарында қарқынды өсетінін, споралары көп болатынын, морфологиялық-физиологиялық қасиеттері сақталатынын көрсетті.

4 «ЛБ» қоректік ортасында ферменттерда жақсы өсті, ары қарайғы биопрепараттар өндіруде қолдануға болады. Алынған мәліметтерді энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде биопрепараттар алуда қолдануға болады.

5 Зерттеудің соңғы кезеңінде штамдардың жапырақ ширатқыш көбелектің жұлдызқұрттары, алма күйе көбелегінің жұлдызқұрттарына және көп түсті күрең-қара көбелектің жұлдызқұрттарына қарсы уыттылығы тексерілді. Жүргізілген зерттеулер көрсеткендей барлық нұсқаларда жұлдызқұрттардың өлуі бақылауға қарағанда айтарлықтай жоғары болды. Штамдардың пайыздық көрсеткіші 80-100 % аралығында болды, бұл штамдардың вируленттілігіне байланысты. БТ-1 препаратының штамымен БТ-2 штамы биологиялық белсенділік жағынан теңдей дәрежені көрсетті. Штамдардың уыттылығын зерттей келе, БТ-2 штамының негізінде жаңа отандық зинкестерге қарсы биопрепарат шығаруға болады деген қорытындыға келуге болады.

ҚАБЫЛДАНҒАН ҚЫСҚАРТУЛАР ТІЗІМІ

АҚШ	– Америка құрама штаттары
АШМ	– ауыл шаруашылық мекемесі
БҰҰ	– Біріккен Ұлттар Ұйымы
ГХЦГ	– (гексахлоциклогексан) препараттары
ДДТ	– (дихлодифенилтрихлорэтан) препараттары
ЖПҰ	– Жартылай препараттық үлгі
ЖШС	– жауапкершілігі шектеулі серіктестік
КТБ	– колония түзу бірлігі
ҚР	– Қазақстан Республикасы
ММ	– Мемлекеттік мекеме
ОШ	– Орман шаруашылығы
с.е.	– солтүстік ендік
КСРО	– Кеңестік Социалистік республика одағы
ФҚТ	– Фитосанитарлық қауіпті талдау
ҰМТС	– Ұлыттық мемлекеттік табиғи саябақ
к.ұ.	– құрғақ ұнтақ
ж	– жылы
°С	– градус Цельсия
мм	– миллиметр
см	– сантиметр
м	– метр
м ²	– шаршыметр
м/с	– метр/секундына
г	– грамм
мг	– миллиграмм
э.к.	– эмульсия концентраты
л/га	– литр гектарына
т/ га	– тонна/гектар
ц/га	– центнер/га

ҚАБЫЛДАНҒАН ТЕРМИНДЕР ТІЗІМІ

Ареал – жануарлардың өсімдіктердің белгілі бір түрі немесе туысы таралған аймақ.

Дернәсіл – бунақденелілердің жұмыртқаларынан дамыған сатысы.

Имаго – бунақденелілердің дамуындағы соңғы ересек түріне айналған сатысы. Осы сатысында бунақденелілер ұрықтанып жұмыртқаларын салады.

Бактериоз – бактерия қоздыратын аурулар.

Микробиологиялық күрес – микроорганизмдер негізінде даярланған препараттарды ауыл шаруашылық дақылдары зиянкестеріне қарсы пайдалану.

Энтомопатогенді бактериялар – бір клеткалы организмдер, олар бунақденелілер денесінде дамиды және олардың тіршілік қарекетін әлсіретеді немесе өлтіреді.

Инсектицидтер – зиянды бунақденелілерге қарсы қолданатын препараттар.

Пестицидтер – зиянкестерге, ауруларға және армшөптерге қарсы қолданатын химиялық заттар.

Фенология – өсімдіктермен жанурлардың дамуын маусымы бақылау.

Бүрку – бүріккіш деп аталатын арнайы құрылғымен қорғаныс құралдарын тамшылай – сұйықтық күйінде объектіге (өсімдік, бунақдене) бүркетін пестицидтерді қолданудың әмбебеп әдіс.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Каменёк Л. К., Штерншис М. В. Влияние дельта эндотоксина *Bacillus thuringiensis* на активный транспорт ионов у насекомых // Изв. СО АН СССР. Сер.бюл. - 1984. - Вып.3. - С. 13-17.
- 2 Штейнхауз Э. А. Патология насекомых / Э. А. Штейнхауз. – М.: Иностранная литература, 1972. - 826 с.
- 3 Heimpel A.M., Angus T.A. Bacterial insecticides.- In: Bact. rev., Baltimore, 1980. - Vol. 24. - № 3. – P. 266-288.
- 4 L.Goldberg, L.Margalit et al. *Bacillus thuringiensis* CryIAa insecticidal toxin: crystal structure and channel formation //J. Molecular Biology, 1995. - № 254.- P. 447-464.
- 5 Гукасян А.Б Таксономическое положение кристаллоносной бациллы *Bacillus insectus* Guk. // В сб.: Кристаллоносные микроорганизмы и перспективы их использования в лесном хозяйстве. - М., 1987. – С. 5-20.
- 6 Троицкая Е.Н. Сравнение методов хранения культур штаммов *Bacillus thuringiensis* var. *galleriae* // Прикл.биохимия и микробиология. - 1979. – Т. 15. - Вып.3. – С. 402-403.
- 7 Чичигина И.П. Вредность бактериальных инсектицидных препаратов, приготовленных на основе *Bacillus thuringiensis* для тутового шелкопряда и пути ее снижения. – Автореф. дис. канд. – Самарканд, 1989. – 24 с.
- 8 Heimpel A.M., Angus T.A. The site of action of crystalliferous bacteria in *Lepidopteres* larvae.- J. insect, pathol., 1989. – V.1. – P. 152-170
- 9 Поспелов В.П. Результаты работ лаборатории болезней насекомых по разработке микробиологического метода борьбы с вредными насекомыми / В.П. Поспелов // Итоги науч.-исследоват. работ ВИЗР за 1985 г. – 1986. – 318 с.
- 10 Исакова Н.П. Патогенез болезни насекомых, вызываемых *Bac.cereus* var. *galleriae*. // В кн. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми. – М., 1993. – С. 49-56.
- 11 Завезенова Т.В., Барайщук Г.В., Кирюшкин А.В. Энтомоцидные кристаллы бацилл группы *thuringiensis* // Микроорганизмы в защите растений от вредных насекомых // Сб. науч. тр. – Иркутск, 1988. – С. 30-35.
- 12 Ковачева Т.С.. Обзор распространения вредителей и болезней леса в Оренбургской области а 1986 году, прогноз появления их в 1987 году и меры борьбы с ними. – Уфа, 1987. – 36 с.
- 13 Смирнова Т.А. Структурно-функциональная характеристика энтомопатогенных бактерий *Bacillus thuringiensis* и их фагов: - Автореф. дис.... д-р. биол. наук – М., 1991. – 50 с.
- 14 Лескова А.Я., Рыбина Л.М. Патогенез насекомых, вызываемый кристаллогенными бактериями, как фактор депрессии их численности. // Сб. статей. «Микроорганизмы в защите растений» – Иркутск. – 1983. – С. 22-31.
- 15 Кандыбин Н.В., Фундаментальные и прикладные исследования микробиометода защиты растений от вредителей. Состояние и перспективы // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. – Краснодар: 2006. – Вып.4. – С. 32-44.

16 М.В. Штерншис. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012 - № 2. – С. 15-17.

17 Штерншис М.В. Факторы оптимизации энтомопатогенных препаратов для защиты растений. Дис. д-ра биол. наук. – Новосибирск. – 1988. – 304 с.

18 Тулемисова К.А. Микробиологические основы создания препаратов для защиты растений: Автореф. дис.... канд. – М.: МГУ, 1989. – 50 с.

19 Батулин В.В., Батурина Л.И. Особенности инфекционного процесса у чешуекрылых и прямокрылых насекомых при заражении их кристаллофорными бактериями группы *B. thuringiensis* // Сб. научных трудов. «Микроорганизмы в защите растений от вредных насекомых». – Иркутск, 1998. - С. 97-107.

20 Кандыбин Н.В., Смирнов А.В. Малотоннажное производство биопрепаратов: проблема становления // Защита и карантин растений, 1997. – С. 16-19.

21 Ермолова В.П. Биопрепараты, удобрения и урожай. – М.: ВНИИА, 2005. – 33 с.

22 Рогатых Н.П., Саламаха О.В. Новый биопрепарат против личинок колорадского жука на основе *Bacillus thuringiensis tenebrions*. – М.: Защита растений, 1993. – 123 с.

23 Лескова А.Я., Рыбина Л.М., Строева И.А. Идентификация культур *Bacillus thuringiensis* и оценка их патогенных свойств. – Л., 1984. - 21 с.

24 Доолоткельдиева Т.Д. Энтомо патогенные бактерии группа *thuringien*. и их роль а микробиол защите растений от вредителей. // Сборник вауч.грудса ОШХУ. – 1999. – 39 с.

25 Кольчевский А.Г. Факторы оптимизации энтомопатогенных препаратов для защиты растений. – Дис. д-ра биол. наук. – Новосибирск. - 1988. – 304 с.

26 Сағитов А.О., Ашықбаев Н.Ж., Слямова Н.Д., Төлеубаев Қ.М., Дүйсембеков Б.Ә., Өсімдіктерді биологиялық қорғау. – Алматы: Қайнар, 2012. – С. 25-40.

27 Копжасаров Б.Б. Биологические особенности американской белой бабочки (*Huphantria cunea Drury*) на юге-востоке Казахстана и разработка защитных мероприятий против неё. – Автореф. дис. канд. – Алматы. – 2007. – 27 с.

28 Николаева З.В. Экологизация защиты овощного сада от колорадского жука на северо-западе России // Садоводство, виноградарство. – 2002. - № 4. – С. 7-8.

29 Костюк Ю.А. Хлопковая совка Украины (видовой состав, распространение, особенности экологии) (098-энтомология). – Авторефер. дисс...на степ. к.б.н. – Киев. – 1998. – 23 с.

Краткий отчет



ҚАЗ ҰТУ

Университет:	Satbayev University
Название:	«Энтомопатогенді микроорганизмдер негізінде ауылшаруашылық зиянкестерге қарсы биологиялық препараттарды алу технологиясын оңтайландыру»
Автор:	Қайратбек Ақерке
Координатор:	Гульнара Курбанова
Дата отчета:	2019-05-04 15:34:03
Коэффициент подоби́я № 1: ?	2,7%
Коэффициент подоби́я № 2: ?	0,3%
Длина фразы для коэффициента подоби́я № 2: ?	25
Количество слов:	8 391
Число знаков:	66 738
Адреса пропущенные при проверке:	
Количество завершенных проверок: ?	33



К вашему сведению, некоторые слова в этом документе содержат буквы из других алфавитов. Возможно - это попытка скрыть позаимствованный текст. Документ был проверен путем замещения этих букв латинским эквивалентом. Пожалуйста, уделите особое внимание этим частям отчета. Они выделены