

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

ISSN 1727-1320

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

---

PLANT PROTECTION NEWS

2

Санкт-Петербург - Пушкин  
2014

# ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

УДК 632

Научно-теоретический рецензируемый журнал

Основан в 1939 г.

Издание возобновлено в 1999 г.

Включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий ВАК

Учредитель Всероссийский НИИ защиты растений (ВИЗР)  
Зарегистрирован в ГК РФ по печати № 017839 от 03 июля 1998 г.

Главный редактор В.А.Павлюшин  
Зам. гл. редактора В.И.Долженко  
Отв. секретарь В.Г.Иващенко

## Редакционный совет

А.Н.Власенко академик, СибНИИЗХим  
В.И.Долженко академик, ВИЗР  
Ю.Т.Дьяков д.б.н., профессор, МГУ  
В.А.Захаренко академик  
С.Д.Каракотов д.х.н., ЗАО ЩелковоАгрохим  
В.Н.Мороховец к.б.н., ДВНИИЗР  
В.Д.Надыкта академик, ВНИИБЗР  
В.А.Павлюшин академик, ВИЗР

С.Прушински д.б.н., профессор, Польша  
Е.Е.Радченко д.б.н., ВИР  
И.В.Савченко академик  
С.С.Санин академик, ВНИИФ  
С.Ю.Синев д.б.н., ЗИН  
К.Г.Скрябин академик, "Биоинженерия"  
М.С.Соколов академик, РБКООО "Биоформатек"  
С.В.Сорока к.с.-х.н., Белоруссия

О.С.Афанасенко  
член-корр. РАСХН  
И.А.Белоусов к.б.н.  
Н.А.Белякова к.б.н.  
Н.А.Вилкова д.с.-х.н., проф.  
Н.Р.Гончаров к.с.-х.н.  
И.Я.Гричанов д.б.н.

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

А.Ф.Зубков д.б.н., проф.  
В.Г.Иващенко д.б.н., проф.  
М.М.Левитин академик  
Н.Н.Лунева к.б.н.

А.К.Лысов к.т.н.  
Г.А.Наседкина к.б.н.  
В.К.Моисеева (секр.) к.б.н.  
Н.Н.Семенова д.б.н.  
Г.И.Сухорученко д.с.-х.н., проф.  
С.Л.Тютюрев д.б.н., проф.  
А.Н.Фролов д.б.н., проф.  
И.В.Шамшев к.б.н.

## Редакция

А.Ф.Зубков (зав. редакцией), И.Я.Гричанов, С.Г.Удалов, Е.О.Вяземская

Россия, 196608, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ВИЗР

Email: vizrspb@mail333.com

vestnik@iczr.ru

УДК 577.152.632.754.1:633.11

## СВОЙСТВА НАТИВНЫХ И РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНАЗ СЛОННЫХ ЖЕЛЕЗ КЛОПА ВРЕДНАЯ ЧЕРЕПАШКА (*EURYGASTER INTEGRICEPS* PUT.), ГИДРОЛИЗУЮЩИХ КЛЕЙКОВИНУ ПШЕНИЦЫ

Ал.В. Конарев\*, В.В. Долгих\*, И.В. Сендерский\*, Л.И. Нефедова\*,  
А.В. Конарев\*\*, Н.К. Губарева\*\*

\*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

\*\*Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И.Вавилова, Санкт-Петербург

Вредная черепашка и другие хлебные клопы рода *Eurygaster* Lap. наносят огромный ущерб качеству зерна пшеницы в России, Европе и на Ближнем Востоке. Протеиназы слонных желез данных клопов, гидролизующие основные белки клейковины пшеницы - глиадины и глютенны и ухудшающие качество муки, являются экономически важными факторами вредности, а также представляют интерес как потенциальные маркеры для диагностики повреждения зерна и модификаторы клейковины. Для разработки подходов к снижению ущерба от действия ферментов вредителя необходимо изучение их природных и рекомбинантных форм. С помощью электрофореза, хроматографии и изоэлектрического фокусирования (ИЭФ) в сочетании с методом глютеинового реплики сопоставлены свойства гидролизующих глютеинин протеиназ из слонных желез клопов и поврежденных зерен, собранных в различных регионах России и Турции. Обнаружено, что в слонных железах вредной черепашки синтезируется сложный комплекс гидролизующих клейковину протеолитических ферментов, в котором преобладают формы с молекулярной массой 28-31 кДа. В поврежденном зерне присутствуют сериновые протеиназы с молекулярной массой около 28 кДа. Протеиназы, выявляемые после ИЭФ белков поврежденного зерна с помощью глютеинового реплики, лишь частично совпадают с протеиназами слонных желез по компонентному составу. Протеиназы, выделенные из образцов поврежденного зерна различного происхождения, сходны по молекулярной массе и способности гидролизовать глютеины пшеницы, но отличаются по составу компонентов при ИЭФ. С использованием трех вариантов гетерологической экспрессии в клетках бактерий и дрожжей получен ряд активных форм одной из протеиназ, синтезируемых в слонных железах клопа. Показано, что наиболее близкой к природным протеиназам по изотопке и специфичности является форма, экспрессированная в дрожжах в виде зимогена с сигнальным пептидом. Результаты исследований расширяют представления о пищеварительных протеиназах хлебных клопов и могут быть использованы при решении широкого круга проблем защиты растений и в пищевых технологиях.

*Ключевые слова:* вредная черепашка, слонная железа, поврежденное зерно, протеиназа, клейковина, глютеинин, глютеиновая реплика, гетерологическая экспрессия, *Pichia pastoris*, рекомбинантный фермент.

Вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. и другие хлебные клопы рода *Eurygaster* Lap. наносят огромный ущерб качеству зерна пшеницы в России, Европе и на Ближнем Востоке (Critchley, 1998; Алехин, 2002; Sivri et al., 2002; Vaccino et al., 2006; Павлюшин и др., 2010). Данные вредители при питании вводят в эндосперм секреты слонных желез, содержащие карбогидразы, протеиназы и другие пищеварительные ферменты, и затем всасывают частично гидролизованные белки и углеводы. Помимо общего снижения количественных параметров урожая, а также всхожести поврежденных семян (Капусткина, Нефедова, 2013), оставшиеся в них в следовых количествах протеиназы способны нарушить процесс формирования клейковины при замесе теста, что негативно сказывается на качестве хлеба и других изделий из муки пшеницы (Hariri et al.,

2000; Гапонов и др., 2009; Каменченко и др., 2010; Torbica et al., 2014). Действие протеиназ клопов выражается в гидролизе главных белков клейковины - глиадинов и глютеинов. В последнее время наблюдается расширение ареала хлебных клопов и усугубление связанных с ними проблем. Среди возможных экологически безопасных подходов к снижению потерь, вызываемых хлебными клопами, можно выделить использование устойчивых сортов. Эта устойчивость может базироваться на различных факторах (Вилкова, Конарев, 2010; Крупнов, 2011), в т.ч. на особенностях состава и структуры запасных белков зерна пшеницы (Fatehi et al., 2008; Werteker, Kramreither, 2008). Известны примеры создания устойчивых к вредителям и болезням форм растений, в которые были внедрены гены белковых ингибиторов пищеварительных протеиназ и дру-

гих гидролаз (Dunaevsky et al., 2005; Мосолов, Валуева, 2008; Gatehouse, 2011; Jamal et al., 2012). Однако в отношении хлебных клопов такой подход пока невозможен вследствие того, что протеиназы их слюнных желез мало чувствительны к известным ингибиторам из растений (Konarev et al., 2011). В медицине при необходимости подавить патологическую активность определенной протеиназы конструируют ее специфичный ингибитор, взяв за основу одну их известных форм. Например, обнаруженный нами ранее циклический ингибитор трипсина из подсолнечника SFTI-1 (Luckett et al., 1999; Konarev et al., 2000) модифицируют для придания ему активности к протеиназам, активность которых возрастает при различных патологиях (Avrutina et al., 2012; Zoller et al., 2012). Ингибиторы протеиназ также конструируют на основе антител, специфичных к их активному центру (Ganesan et al., 2010). Подобные подходы могут быть применены и при решении задач защиты растений, поскольку гены ингибиторов протеиназ могут быть встроены в геном растений для блокирования активности чужеродных протеиназ.

Поиск более эффективных путей к снижению ущерба от действия протеиназ хлебных клопов невозможен без их детального изучения. Исследования ферментов клопов, повреждающих клейковину, ведутся с первой половины XX века как в России, так и за рубежом (Blagoveschensky, Sossiedov, 1933; Kretovich, 1944; Вилкова и Буринская, 1977; Sivri et al., 2000). Однако лишь недавно удалось частично охарактеризовать некоторые из них - пролил-эндопротеазу (Darkoh, 2010), возможно специфичную к глиадинам, и трипсиноподобную протеиназу, гидролизующую высокомолекулярные субъединицы глютеина (HMW-Gn), белки, ответственные за наиболее важные качества клейковины (Konarev et al., 2011). Та-

кая задержка отчасти может быть объяснена спецификой свойств протеиназ клопов и отсутствием простых методов их анализа. Помимо деструктивной роли данных протеиназ в отношении хлебопечения, также представляет интерес возможность их использования как модификаторов белков клейковины в пищевых технологиях (Olanca, Sivri, 2010) и в медицине для снижения токсичности компонентов клейковины пшеницы в отношении чувствительных к ним людей, в т.ч. страдающих от опасного заболевания - целиакии (Konarev et al., 2011; Pena, 2014; Gasbarrini et al., 2014) наряду с другими протеиназами насекомых, грибов и растений (Elpidina, Goptar, 2007; Stenman et al., 2009; Mika et al., 2013). Выявленная нами ранее специфичность протеиназ черепашки к высокомолекулярным субъединицам глютеина пшеницы, в частности к эпитопам, иммуногенным для ряда пациентов (Konarev et al., 2011), указывает на принципиальную возможность использования данных ферментов вредителя в сочетании с другими протеиназами, более специфичными к основным иммуногенным белкам клейковины - глиадинам. Для исследований в связи с перечисленными выше проблемами необходимо располагать достаточным количеством очищенной протеиназы насекомого, чего можно добиться, в частности, за счет получения ее рекомбинантных форм. Однако последние не всегда полностью соответствуют по свойствам природным (нативным) формам. Целью работы было охарактеризовать по свойствам и изменчивости природные протеиназы вредной черепашки и родственных ей клопов, выделенные из слюнных желез и поврежденных зерен, отработать подходы к получению активных рекомбинантных форм данных ферментов, а также сопоставить свойства нативных и рекомбинантных протеиназ.

#### Методика исследований

Образцы зерна пшеницы, поврежденного вредной черепашкой и другими клопами рода *Eurygaster* Lap. урожая 2004-2012 гг., получены из различных регионов России и Турции: образец мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Тарасовская 87 (Ростовская область), смеси образцов различных сортов пшеницы из Ростовской области и смежных регионов России (См1), Самарской области (См2), а также сортов мягкой (Kizce, Bayraktar) и твердой

*T. durum* Desf. (сорт Ege-88) пшеницы из Турции. Смесь См2 составлена из изначально неповрежденных зерен, на которых в течение четырех дней в лабораторных условиях питались имаго вредной черепашки, собранные в Самарской области. Поврежденные и неповрежденные зерна отбиралось из образцов по принятой в ВИЗР методике. Поврежденные зерна использовались в качестве контроля.

Слюнные железы выделяли из имаго вредной чере-

пашки *E. intrgriceps* (Павловский 1957; Konarev et al., 2011), полученных из различных регионов Поволжья (Самарской и Саратовской областей) и Северного Кавказа (Ставропольский край). Отбор клопов из Ставропольского края по морфотипам проводили по С.Р.Фасулати (2010).

Белковые фракции, содержащие протеиназы, экстрагировали из размоловых поврежденных зерен 0.01% Triton X-100 (1:5) в течение 20 мин. Для изофокусирования (ИЭФ) препараты концентрировали осаждением в ацетоне с последующим растворением преципитата в 0.01% Triton X-100 в объеме, эквивалентном весу зерна. Слонные железы от 10 особей гомогенизировали с 50 мкл 1% CHAPS и центрифугировали. Надосадочную жидкость хранили при -20°C с 50% глицерином.

ИЭФ белков проводили в пластинах 5% полиакриламидного геля (ПААГ) с амфолинами pH 5-8 на приборе Multiphor II (LKB) или в пластинах Phast Gel pH 5-8 на приборе Phast System (Pharmacia) (Konarev, Lovegrove, 2012). При фракционировании препаратов протеиназ нагель в области анода с помощью бумажных полосок нанесли 0.2-3 мкл экстракта. После ИЭФ протеиназы выявляли с помощью варианта метода глиутениновой реплики, основанного на гидролизе растворимой в уксусной кислоте фракции данного белка (Конарев и др. 2013). Электрофорез белков с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле (ДСН-ПААГЭ) проводили в пластинах гомогенных 12% или градиентных (8-25 и 10-15%) полиакриламидных гелей по U.K.Laemmly (1970) или протоколам фирмы Pharmacia с последующим окрашиванием красителями Кумасси (R-250 или G-250) или серебром.

Активность гидролизующих клейковину протеиназ определяли модифицированным полуквантитативным микрометодом ДСН-седиментации клейковины (Konarev et al., 2013).

Наличие глютеин-гидролизующей активности у анализируемых белков выявляли также с помощью микромода, включающего инкубацию муки из неповрежденного зерна пшеницы с протеиназой, центрифугирование, экстракцию белков из осадка буфером нанесения, содержащим меркаптоэтанол, с последующим ДСН-ПААГЭ. Субстратом служили компоненты высокомолекулярных субъединиц глютеина (HMW-Gn) определенных сортов пшеницы, легко гидролизующие протеиназами черепашки, а электрофорез осуществляли в компактных Phast гелях. Это позволило использовать для анализа минимальные количества субстрата (1-2 мг муки) и фермента. О наличии активности судили по ослаблению (по сравнению с контролем без фермента) или исчезновению компонентов HMW-Gn. Параллельно ставили пробы с суммарным препаратом протеиназ вредной черепашки, выделенным из поврежденных зерен пшеницы или обогащенным аффинной хроматографией на иммобилизованном ингибиторе хмиптрипсина I из картофеля (ИХт-I; Konarev et al., 2011). Для сравнения субстратной специфичности изучаемые протеиназы инкубировали с набором рекомбинантных пептидных аналогов HMW-Gn, отличающихся по структуре повторяющихся последовательностей (Wellner et al., 2006), и анализировали результаты гидролиза с помощью ДСН-ПААГЭ.

Для препаративного фракционирования белков зерна и насекомых применяли гель-фильтрацию и ионообмен-

ную хроматографию (Konarev et al., 2011). Для очистки протеиназ из слонных желез клопов использовали микропрепаративное ИЭФ в ПААГ. Экстракт из гомогенизированных слонных желез наносили на пластину геля 100x125 мм с помощью полосы фильтровальной бумаги 10x90 мм, наложенной вдоль анода на расстоянии 1 см от него. Проводили ИЭФ в интервале pH 5-8 и выявляли протеиназы с помощью узких полосок глютеиновой реплики. Соответствующие зоны геля вырезали, измельчали и экстрагировали из них протеиназы раствором, содержащим 15% этанол, 0.7% CHAPS и 0.1% трифторуксусную кислоту, а затем раствором, содержащим 15% этанол и 0.01M этаноламин (по 30 мин). Экстракты объединяли и концентрировали центрифугированием в ячейках Centricon 10 ("Millipore").

Для очистки рекомбинантных ферментов применяли препаративное изофокусирование в слое гранулированного геля Ultrodex (LKB, Швеция) в интервале pH 5-8 с последующим выявлением компонента протеиназы с помощью полосок глютеиновой реплики. Протеиназу элюировали на колонке из соответствующего участка геля 0.01% тритоном X-100 и концентрировали добавлением сухого сефадекса G-25 или в ячейках Centricon 10.

Для гетерологичной экспрессии глютеин гидролизующей протеиназы (GHP), синтезируемой в слонных железах вредной черепашки, использовали полученный в ходе предыдущей работы (Konarev et al., 2011) препарат кДНК, кодирующий сигнальный пептид, пропептид и зрелый фермент изоформы 3 (GHP3; GenBank: HM579787.1).

Для осуществления гетерологичной экспрессии зрелой формы протеиназы GHP3 в бактериях *E. coli* белок-кодирующая последовательность была амплифицирована с помощью прямого праймера 5'ATGCCCTCGAGATTGTTCGGCGGTCTCAGCGCT3', соответствующего N-концевому участку фермента без сигнального пептида и продомена. Обратный праймер 5'AGTCGAATTCTTACTTCGATTTCTTTGACATC 3' строго соответствовал C-концевому участку молекулы. Для встраивания фрагмента ДНК в экспрессирующий вектор в 5' концевые участки праймеров включали сайты ферментов рестрикции *Xho*I и *Eco*RI (отмечены подчеркиванием). Реакционная смесь для ПЦР кроме 1 мкл кДНК содержала 67 мМ Трис-НСl (pH 8.6), 2.5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 16.6 мМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.5 мМ каждого дНТФ, 10 пмоль праймеров, 2.5 Е *Pfu* ДНК полимеразы (Fermentas, Литва). Матрицу денатурировали 3 мин при 94°C и ДНК амплифицировали в течение 30 циклов, каждый из которых включал денатурацию (94°C, 30 сек), отжиг (58°C, 30 сек) и синтез (72°C, 2 мин). Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в агарозе и фрагмент ДНК размером около 800-850 пн выделяли из геля с помощью технологии GENECLAN®. Очищенный фрагмент встраивали в экспрессирующий вектор pRSETA (Invitrogen, США) по сайтам *Xho*I и *Eco*RI с использованием T4 ДНК лигазы (Fermentas, Литва). Секвенирование полученной конструкции с помощью T7 прямого и обратного праймеров подтвердило 100% идентичность клонированной последовательности гена протеазы клопа, а также ее корректное встраивание в экспрессирующий вектор.

Экспрессию зрелой формы протеиназы в бактериях осуществляли с использованием штамма C41 *E. coli*, созданного для эффективной наработки белков на основе

клеток BL21(DE3) (Dolgikh et al., 2011). Свежие колонии бактерий, трансформированных полученной конструкцией, инокулировали в среду LB, содержащую ампицилин (100 мкг/мл), и культуру растили при 37°C до оптической плотности 0.6 (измерение при длине волны 600 нм). После добавления в среду в качестве специфического индуктора экспрессии изопропил- $\beta$ -D-тиогакто-пиранозид (ИПТГ) до конечной концентрации 1 мМ инкубацию продолжали в течение ночи. Бактерии осаждали центрифугированием при 3000 g 10 мин, отмывали дистиллированной водой и разрушали ультразвуком в 50 мМ Трис-НСl буфере (pH 8.0). Рекombинантную форму фермента, накапливающуюся в бактериях в виде нерастворимых белковых включений, осаждали центрифугированием при 1500 g 10 мин, отмывали тем же раствором и хранили при -20°C или сразу экстрагировали в присутствии 8М мочевины.

Процедура рефолдинга, имевшая целью получение активной формы протеиназы, включала растворение телец включения в 8 М мочевины, диализ против трис-НСl буфера pH 8.5 с 30 мМ DTT, диализ против буфера и концентрирование, инкубацию рекombинантного белка с энтерокиназой (Novagen, США) для отделения вспомогательной полигистидиновой последовательности и диализ против Трис-НСl буфера pH 10.5 с 2М мочевиной и 1.25 мМ/0.25 мМ восстановленного/окисленного глутатиона при 4°C в течение ночи.

Для выяснения внутриклеточной локализации рекombинантного белка бактерий осаждали из жидкой культуры с помощью центрифугирования при 3000 g 10 мин и разрушали ультразвуком на льду в присутствии 50 мМ Трис-НСl (pH 8.0) буфера. Гомогенат центрифугировали при 18000 g 10 мин и осадок ресуспендировали в 50 мМ Трис-НСl (pH 8.0) буфере. Рекombинантный продукт выявляли в полученных фракциях с помощью иммуноблоттинга с антителами против полигистидиновой последовательности (Sigma-Aldrich).

Для получения поликлональных антител белковые включения солибилизовали в присутствии 8М мочевины, приготовленной на 50 мМ Трис-НСl буфере (pH 7.4). Нерастворимый дебрис удаляли с помощью центрифугирования, а супернатант диализовали против 100 объемов буфера ТБС pH 7.4. Диализат смешивали с равным объемом адьюванта Фрейнда (Sigma-Aldrich, США) (полный для первой инъекции и неполный для последующих) и иммунизировали кроликов с помощью четырех внутримышечных инъекций по 0.3 мг белка с десятидневным интервалом. Через 10 дней после последней иммунизации было отобрано 15 мл крови.

Для очистки специфичных антител 0.5 мг рекombинантного белка разделяли с помощью ДДС-ПААГЭ в 12% геле, переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Bio-Rad, США) и окрашивали с помощью Понсо. Полоски мембраны, соответствующие перенесенному белку, вырезали, отмывали ТТБС (50 мМ Трис-НСl (pH 8.0), 0.3 М NaCl, 0.05% Твин-20), блокировали 1 час при комнатной температуре в ТТБС в присутствии 1% БСА и инкубировали с 50 мл иммунной сыворотки, разведенной 1:5 в ТТБС, в течение 12 часов. Мембраны тщательно отмывали ТТБС и затем ТБС (ТТБС без добавления Твин-20). Антитела элюировали в 250 мкл 0.2 М глицин-НСl (pH 2.5) и нейтрализовали добавлением 15 мкл 1М Трис и 2.5 мкл 5М NaCl. Элюцию повторяли несколько раз, фракции объ-

единяли, концентрировали с помощью концентраторов Centricon и очищенные антитела хранили при -20°C в присутствии БСА (1 мг/мл) и 50% глицерина. Полученные антитела использовали в иммуноблоттинге для выявления нативных и рекombинантных форм протеиназы GHP3 после ДДС-ПААГЭ и ИЭФ-облов.

При экспрессии зрелой формы протеиназы в метилотрофных дрожжах *P. starorisi* белок-кодирующая последовательность была слита с последовательностью, кодирующей сигнальный пептид альфа-фактора дрожжей, входящей в состав вектора pPIC9 (Invitrogen, США). Данная плазмида была создана для наработки белков, секретируемых в среду для культивирования. Поскольку сайт *XhoI* вектора pPIC9 находится внутри последовательности, кодирующей сигнальный пептид альфа-фактора дрожжей, для ПЦР-амплификации белок-кодирующей последовательности был подобран прямой праймер 5'ACGACTCGAGAAAAGAGAGGGTGAAGCTATTGTGCGCGGGTCTCAGGCGCT3', в котором непосредственно за сайтом *XhoI* (отмечено подчеркиванием) была добавлена последовательность, необходимая для секретиции рекombинантного белка, но удаляемая при разрезании вектора по сайтам *XhoI/EcoRI*.

Последовательность, кодирующая зрелый фермент, была амплифицирована с использованием в качестве матрицы плазмиды для бактериальной экспрессии (см. выше). Линеаризованную с помощью фермента *SacI* плазмиду со встроенным геном очищали с помощью последовательной экстракции фенолом (1 раз), хлороформом (2 раза), переосаждали спиртом, растворяли в воде и переносили в дрожжевые клетки GS115 с помощью электропоратора 2510 (Eppendorf, Германия). Клетки высевали на твердую минимальную среду MD (1.34% YNB,  $4 \times 10^{-5}$  биотин, 2% глюкоза) и растили двое суток при 28°C. Эффективность рекombинации полученной конструкции в геном дрожжей анализировали с помощью ПЦР (Ling et al., 1995) с использованием тех же праймеров.

Для осуществления экспрессии протеиназы клопа ПЦР-положительные трансформанты, а также отрицательный контроль инокулировали в 10 мл среды VMGY (1% дрожжевой экстракт, 2% пептон, 100 мМ К-фосфатный буфер (pH 6.0), 1.34% азотной основы для дрожжей (YNB),  $4 \times 10^{-5}$  биотина, 1% глицерола) и культивировали 2 дня при 28°C. Выросшие клетки осаждали центрифугированием, а среду VMGY, содержащую глицерин в качестве источника углерода, заменяли на 10 мл среды VMU с таким же содержанием метилового спирта - индуктора промотора гена *AOX1*, контролирующего экспрессию изучаемого белка. Инкубацию продолжали в течение 2 суток, добавляя на второй день свежую порцию метанола до конечной концентрации 0.5%. После осадения клеток при 2000 g 10 мин, культуральную жидкость концентрировали приблизительно в 20 раз с помощью ячеек Centricon и анализировали с помощью ДДС-ПААГЭ и иммуноблоттинга с полученными ранее антителами.

Для экспрессии полноразмерной кДНК, кодирующей сигнальный пептид, продомен и зрелый фермент, последовательность была амплифицирована с помощью праймеров, строго соответствующих 5' и 3'- концевым участкам гена. Для этого был синтезирован прямой праймер 5'CCATAGATCTATGCGGTGTACATTGGTACTGGT3',

содержащий сайт рестриктазы *Bgl*III (подчеркнут). ПЦР-амплифицированная копия гена была встроена в вектор pPIC3.5, не содержащий какого-либо сигнального пептида, по сайтам *Bam*HI и *Eco*RI, поскольку ферменты *Bgl*III и *Bam*HI генерируют комплементарные липкие концы.

Трансформацию клеток *P. pastoris* (штамм GS115), метанол-индуцируемую экспрессию белка, центрифиро-

вание и анализ культуральной жидкости осуществляли с помощью методов, описанных в предыдущем разделе.

Активацию профермента (зимогена) осуществляли путем инкубации сконцентрированной культуральной жидкости (250 мкл) с 1 мг препарата иммобилизованного трипсина Trypsin Enzygel (Boehringer Mannheim) в 50 mM Трис-НСI буфере pH 8.5 в течение 2 часов.

### Результаты исследований

Использование ИЭФ в сочетании с методом реплики, где в качестве субстрата для протеиназ использовался тонкий слой растворимого в уксусной кислоте глютеина, позволило сопоставить компонентный состав гидролизующих глютеин протеиназ

из ряда образцов зерна пшеницы, поврежденного клопами рода *Eurygaster*, полученных из различных регионов России и Турции (анализировались навески зерна), а также слюнных желез вредной черепашки (рис. 1).

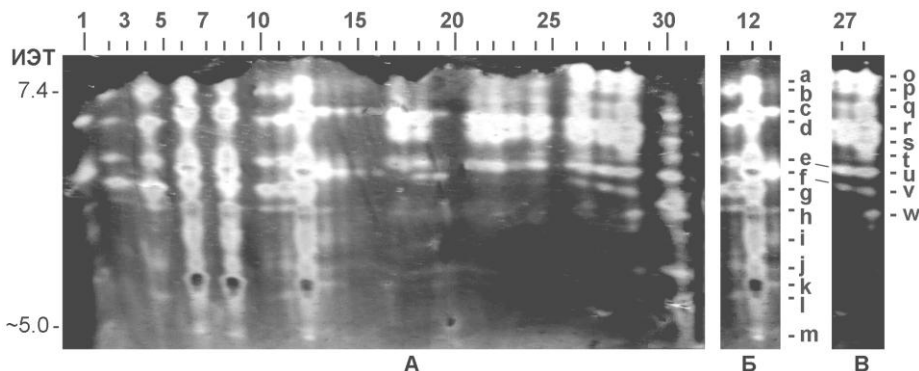


Рис. 1. Анализ гетерогенности и изменчивости гидролизующих глютеин протеиназ из слюнных желез вредной черепашки и родственных ей видов рода *Eurygaster* Lap. и из поврежденных ими зерен разных сортов мягкой и твердой пшеницы. Водорастворимые белки разделены методом ИЭФ в пластине ПААГ и протеиназы выявлены с помощью глютеиновой реплики. 1, 13 и 14 - смесь поврежденных зерен разных сортов пшеницы из Ростовской области и смежных регионов России (См1); 2, 3, 10, 30 и 31, сорт *Ikizce*, Турция (2, 10 и 30 - поврежденные, а 3 и 31 - неповрежденные зерна); 4, 5 и 11 - сорт *Bayraktar*, Турция (4 и 11 - поврежденные и 5 - неповрежденные зерна); 6, 7, 8 и 12 сорт *EGE-88* (*T. durum*), Турция (6, 8 и 12 поврежденные и 7 - неповрежденные зерна); 15 - сорт *Тарасовская 87*, Россия, поврежденные зерна; 16 и 19, смесь зерен различных сортов пшеницы (См2, Россия), на которых питались имаго вредной черепашки; 17, 18 и 21-28 - слюнные железы имаго клопов: 17 и 21-25, морфотипы из Ставропольского края: 17 и 21 морфотип № 1; 22 и 23 - № 2; 24 - № 3, 25 - черная экоформа. 18, 26 и 27 - клопы из Самарской, а 28 - из Саратовской области. Б и В - фрагменты реплики А с обозначениями компонентов протеиназ. 9, 20 и 29 - пустые дорожки. 7.4 - позиция маркера ИЭТ, ~5.0 - ориентировочное значение ИЭТ.

Экстракты из поврежденных зерен и слюнных желез дали четкие спектры гидролизующих глютеин протеиназ. В свою очередь в неповрежденных зернах (дорожки 3, 5, 7 и 31) компоненты протеиназ не выявлялись. Изоэлектрические точки (ИЭТ) большинства компонентов из поврежденных зерен находились в интервале pH от 6 до 7.5. ИЭТ компонентов протеиназ из слюнных желез, в целом, несколько выше. Лишь некоторые из компонентов протеиназ, выделенных из российских образцов поврежденного зерна, отчетливо сов-

падали по ИЭТ с компонентами из слюнных желез. Очевидно сходство двух компонентов протеиназ из образца, на котором питались клопы (дорожки 16 и 19), с отдельными компонентами протеиназ из слюнных желез (дорожки 17 и 18). Возможно, что не все компоненты протеиназ секретируются в зерно из слюнных желез в исходном состоянии или в созревшем зерне сохраняются лишь отдельные фракции протеиназ. Спектры протеиназ из российских образцов зерна, поврежденного вредной черепашкой, в целом совпадали меж-

ду собой, а также с отдельными компонентами протеиназ образца твердой пшеницы сорта Ege-88 из Турции (дорожка 12). Остальные компоненты образца Ege-88 соответствовали по ИЭТ протеиназам двух других образцов из Турции. Последние не имели компонентов, общих с российскими образцами. Возможно, образец Ege-88 повреждался формой клопа, промежуточной между *E. integriceps* и каким-то другим видом рода *Eurygaster*, обитающим в Турции. Нельзя исключить также, что на поле, где был собран образец, помимо вредной черепашки присутствовали другие виды клопов.

Эти результаты совпадают с теми, что описаны в другой нашей работе (Конарев и др., 2013), где изменчивость протеиназ описана более детально.

ИЭФ спектры протеиназ из слюнных желез клопов, собранных в трех регионах России, в целом незначительно различались между собой, за исключением компонента “v” (рис. 1В), который выявлялся в железах клопов из Поволжья, но отсутствовал или был ослаблен в материале из Ставропольского края. Интересно, что соответствующий по ИЭТ компонент протеиназы встречался во всех изученных образцах зерна из разных регионов России (рис. 1Б,ф). Анализ трех (№ 1-3) из четырех известных морфотипов клопов не обнаружил различий между ними по составу протеиназ слюнных желез (дорожки 21-24), а в железах из черной экоформы протеиназы не выявлялись (дорожка 25).

Для сравнительного изучения физико-химических свойств протеиназ из слюнных желез вредной черепашки и зерен, поврежденных ею или другими представителями рода *Eurygaster*, был опробован ряд методов фракционирования и очистки. Результаты ДСН-ПААГЭ полученных фракций белков показаны на рисунке 2.

После гель-филтрации белков слюнных желез одна из фракций оказалась практически гомогенной и содержала лишь один полипептид с молекулярной массой около 31 кДа (дорожка 4). Он соответствовал компоненту, преобладающему в суммарном спектре белков слюнных желез (дорожка 2). Его относительная близость по размеру известным сериновым трипсиноподобным протеиназам насеко-

мых и млекопитающих допускала вероятность того, что он также является протеиназой. Ко времени начала этих исследований нами было установлено, что протеиназы слюнных желез клопа слабо реагируют с известными белковыми ингибиторами протеиназ, в отличие от сериновых протеиназ многих других насекомых.

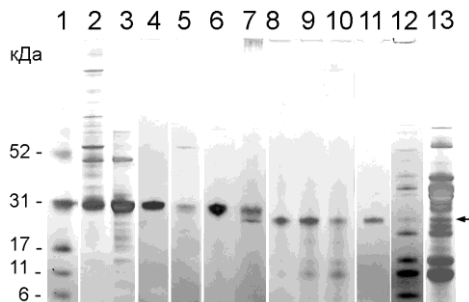


Рис. 2. ДСН-ПААГЭ отдельных фракций белков слюнных желез вредной черепашки (2-7) и поврежденного зерна пшеницы (8-13)

1 - белки маркеры молекулярной массы (в кДа); 2 - экстракт из слюнных желез; 3 и 4 фракции, полученные гель-филтрацией; 5 - фракция, элюированная с иммобилизованного ингибитора химотрипсина I из картофеля (ИХт-I) 0.015M HCl; 6 и 7 - фракции после препаративного ИЭФ. 8-10 - фракции белков поврежденного зерна, элюированные с ИХт-I: 8 - сорт Ege-88; 9 - Bayraktar; 10 - смесь поврежденных семян разных сортов из России (См1); 11, фракция, элюированная с ИХт-I (дорожка 10), дополнительно очищенная гель-филтрацией. 11-12 - фракции белков с протеолитической активностью, полученные ионообменной хроматографией. Стрелкой указано положение компонента протеиназы, соответствующего тому, что был частично секвенирован (Konarev et al., 2011). Гель окрашен серебром.

Однако было известно, что активность протеиназы другого вредителя пшеницы - клопа *Nysius huttoni* White (Lygaeidae) из Новой Зеландии, также повреждающего клейковину пшеницы, подавляется ингибитором химотрипсина I (Every et al., 2005). Это позволило использовать данный ингибитор в качестве лиганда для выделения протеиназы слюнных желез черепашки методом аффинной хроматографии. Экстракт слюнных желез был пропущен нами через колонку с ингибитором, а связанные белки были элюированы 0.01M HCl. Главный белковый компонент, содержащийся



в элюате (дорожка 5), соответствовал по размеру полипептиду, выявленному после гель-фильтрации (дорожка 4). Третий подход включал фракционирование белков слюнных желез микропрепаративным ИЭФ в ПААГ с последующим выявлением компонентов гидролизующих глютеинин протеиназ по активности с использованием глютеинового реплики.

Зоны геля с признаками протеолитической активности были вырезаны и содержащиеся в них белки экстрагированы. Данные фракции (дорожки 6 и 7) содержали полипептид, соответствующий по размеру компонентам спектров 2-5, а также полипептид с меньшей массой (дорожка 7). Указанный подход оказался неэффективным при выделении протеиназ из поврежденного зерна ввиду низкого содержания искомого компонента относительно белков зерна. В свою очередь, метод аффинной хроматографии на колонке с иммобилизованным ингибитором химотрипсина из картофеля I оказался более результативным (дорожки 8-10). Интересно, что из образцов поврежденного зерна из России и Турции были выделены сходные по размеру компоненты. Дополнительная очистка с помощью гель-фильтрации позволила удалить низкомолекулярные пептиды и дала практически гомогенный белок с молекулярной массой несколько ниже 30 кДа (дорожка 11). Важно отметить, что фракции, представленные на дорожках 7-11, обладали глютеинин-гидролизующей активностью. Очевидно сходство данного компонента с меньшим из двух компонентов спектра белков слюнных желез, выделенных методом ИЭФ (дорожка 7). Наличие во фракции белков слюнных желез, обладающей протеолитической активностью, двух компонентов, отличающихся по молекулярной массе на 3-4 кДа, и сходство одного из них с протеиназой из поврежденного зерна позволяет предположить, что полипептиды на дорожке 7 представляют собой зимоген и зрелый фермент. Полипептид, выделенный из поврежденных зерен, соответствующий тому, что показан на дорожке 11 (позиция указана стрелкой), был частично секвенирован в другой нашей работе (Koparev et al., 2011), что позволило в итоге определить его полную аминокислотную последовательность и установить его принадлежность к

трипсиноподобным сериновым протеиназам. Интересно, что протеиназы из российских и турецких образцов поврежденного зерна, отличавшиеся при ИЭФ по составу и ИЭТ компонентов, в ДСН-ПААГЭ дали сходные полосы, что свидетельствует о близости данных ферментов по размеру полипептидов. Результаты секвенирования позволили сконструировать праймеры, с помощью которых на основе мРНК слюнных желез клопов, питавшихся зерном, были получены кДНК, кодирующие ряд изоформ гидролизующей глютеинин протеиназы. Одна из них (GenBank: HM579787.1), кодирующая изоформу 3 (GHP3), была использована в следующей части настоящей работы для получения рекомбинантных форм фермента.

Были опробованы три варианта получения рекомбинантных протеиназ черепашки. Один включал проведение гетерологичной экспрессии белка в клетках бактерий *E. coli*, а два других - в клетках метилотрофных дрожжей *Pichia pastoris*. Вначале бактерии (штамм С41) трансформировали плазмидой pRSETA со встроенной последовательностью кДНК, кодирующей зрелую форму протеиназы GHP3 без сигнального пептида и пропептида.

Иммуноблоттинг с антителами против вспомогательной полигистидиновой последовательности, кодируемой используемым вектором и присоединенной к целевому белку с N-конца, показал, что полученный в результате экспрессии рекомбинантный продукт накапливается в клетках в виде нерастворимых белковых включений, что типично для большинства чужеродных белков, экспрессируемых в бактериях, тогда как в растворимой фракции разрушенных ультразвуком бактерий данный белок не обнаруживался (рис. 3А).

Белковые включения, состоящие преимущественно из зрелой формы протеиназы черепашки, были растворены в 8М мочеvine (рис. 1Б) и использованы при иммунизации кроликов для получения поликлональных специфичных антител. Методом иммуноблоттинга было установлено, что данные антитела реагируют как с самим рекомбинантным белком (рис. 3В, дорожка 1), так и с белком слюнных желез вредной черепашки с молекулярной массой около 28 кДа, соответствующей протеиназе GHP3 (рис. 3В,2). Рекомбинантная и нативная протеиназы отличались по молеку-

лярной массе, что связано с присутствием вспомогательного N-концевого пептида в составе экспрессированного белка.

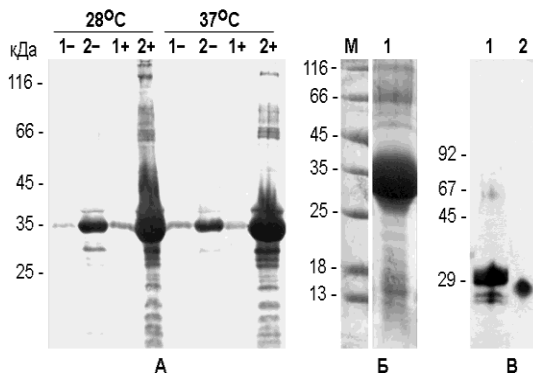


Рис. 3. Выявление рекомбинантного продукта среди белков бактерии *E. coli* после экспрессии зрелой формы протеиназы вредной черепашки методом ДСН-ПААГЭ. А. 1 - супернатант после центрифугирования разрушенных ультразвуком бактерий (растворимые белки бактерий); 2 - осадки после центрифугирования; “+” - инкубация бактерий в присутствии и “-” - в отсутствии индуктора. Белки растворены перед ДСН-ПААГЭ буфером нанесения с меркаптоэтанолом. Иммуноблоттинг с антителами к полигистидиновой последовательности.

Б. Зрелая форма протеиназы экстрагирована из белковых включений в присутствии 8М мочевины и нанесена на гель в буфере с меркаптоэтанолом (1). Гель окрашен Кумасси R-250. М - маркеры молекулярной массы (в кДа).

В. 1 - зрелая форма протеиназы, экстрагированная из белковых включений 8М мочевиной; 2 - белки слюнных желез вредной черепашки. Иммуноблоттинг с антителами к рекомбинантной зрелой форме протеиназы.

Поскольку экспрессированная в бактериях зрелая форма протеиназы черепашки не обладала протеолитической активностью, были использованы различные подходы для восстановления естественной конформации (рефолдинга) рекомбинантного продукта. Стандартными этапами восстановления нативной конформации денатурированного белка являются растворение белковых включений в присутствии 8М мочевины или 6М гуанидин-НСl и постепенное или быстрое снижение концентрации детергента вплоть до его удаления в ходе диализа. Часто в состав смеси для рефолдинга вводят такие дополнительные соедине-

ния как окисленная и восстановленная форма глутатиона, аргинин, полиэтиленгликоль и т.д. Нами были испробованы различные варианты рефолдинга, но только один из них, описанный в разделе "Методика", привел к положительному результату (рис. 4).

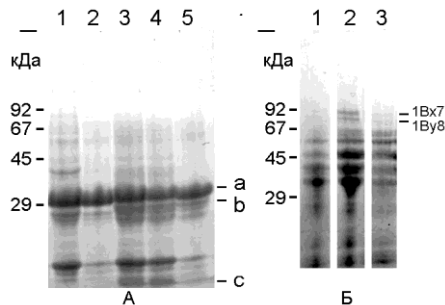


Рис. 4. Обработка энтерокиназой продукта экспрессии в *E. coli* зрелой формы протеиназы вредной черепашки (А) и выявление активности у полученного продукта (РП-1) после рефолдинга (Б). ДСН-ПААГЭ белков в 8-25% Phast геле с последующей окраской Кумасси G-250.

А. Белки, экстрагированные из телец включения 8 М мочевиной до (1 и 2) и после (3-5) обработки энтерокиназой. а - исходный полипептид, соответствующий экспрессированной протеиназе; б и с - полипептиды, появившиеся после обработки.

Б. Муку пшеницы из неповрежденных зерен сорта Ege-88 инкубировали с препаратом, представленным на дорожках 3-5 геля А после рефолдинга (1), трис-НСl буфером рН 8.5 (2, контроль) и нативной протеиназой вредной черепашки, выделенной из поврежденных зерен (3), после чего из осадка экстрагировали белки, которые разделяли ДСН-ПААГЭ. РП-1 соответствует компоненту “b”.

Под действием энтерокиназы у части исходного рекомбинантного белка (компонент “а” (рис. 3А) вспомогательная последовательность была отщеплена. Это привело к появлению компонентов “b” и “с”, видимо соответствующих зрелой форме протеиназы и вспомогательному пептиду (с) соответственно (рис. 3А, дорожки 3-5). Инкубация муки пшеницы с препаратом рекомбинантного белка после рефолдинга (рис. 3Б, дорожка 1), как и с нативной протеиназой черепашки (дорожка 3), привела к ослаблению (частичному гидролизу) компонентов высокомолекулярных субъединиц глютенина (HMW-Gn) 1Bx7 и 1By8

твердой пшеницы сорта Ege-88. Таким образом, нами была показана принципиальная возможность получения активной формы рекомбинантной протеиназы вредной черепашки (обозначенной нами как РР-1) посредством гетерологичной экспрессии в бактериях последовательности, кодирующей зрелый фермент без профермента. Однако, нам не удалось добиться выхода конечного активного продукта в количестве, достаточном для изучения свойств протеиназы. Одной из причин этого могло быть наличие в составе рекомбинантной молекулы дополнительного N-концевого пептида, кодируемого вектором рRSET, имеющего размер около 4 кДа. По-видимому, конформация пептида ограничивала доступ энтерокиназы к сайту гидролиза и замедляла его отщепление от каталитического домена.

Одним из достоинств гетерологичной экспрессии белков высших организмов в бактериях, в целом, является высокий выход конечного продукта, однако он зачастую производится в форме, малоприспособленной для восстановления активности белка, что и имело место в нашей работе. Однако этот продукт нашел применение при получении антител.

Известно, что клетки эукариотических организмов способны осуществлять более корректную укладку (фолдинг) и процессинг синтезируемых молекул белков животных, чем клетки бактерий. В связи с этим на следующем этапе исследования была предпринята попытка экспрессии зрелой формы протеиназы в клетках эукариотических микроорганизмов - метилотрофных дрожжевых грибов *P. pastoris*. Еще одним преимуществом использования дрожжевых систем экспрессии является возможность секреции нарабатываемого чужеродного продукта за пределы клетки (и получения его в растворимой форме), если он содержит экзогенный или собственный эндогенный сигнальный пептид, ответственный за его секрецию. Конструкция, несущая последовательность, кодирующую зрелую форму фермента, слитую с экзогенным сигнальным пептидом альфа-фактора дрожжей, была ис-

пользована для трансформации клеток *P. pastoris*. Это позволило получить как ПЦР-положительные колонии, в клетках которых произошла рекомбинация полученной конструкции в дрожжевой геном, так и ПЦР-негативные колонии, использованные в качестве отрицательного контроля в данном эксперименте. Как показал анализ концентрированной культуральной жидкости с помощью ДСН-ПААГЭ и иммуноблоттинга, рост дрожжевых клеток в среде BMGY и последующее добавление в среду метилового спирта - индуктора промотора гена *AOX1* привели к специфичному накоплению белка размером около 28 кДа - рекомбинантной протеиназы 2 (РР-2) в культуральной жидкости в случае ПЦР-положительных клонов, но не в случае отрицательного контроля.

Анализ культуральной жидкости, содержащей белок РР-2, с помощью ИЭФ в комбинации с методом глютеинового реплики выявил компонент с ИЭТ около 6.5, обладающий протеолитической активностью (рис. 5, дорожка 6).

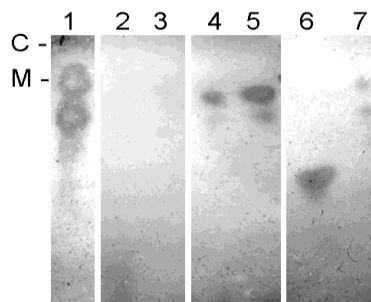


Рис. 5. Выявление активности у рекомбинантных протеиназ РР-2 и РР-3 слюнных желез вредной черепашки, экспрессированных в клетках *P. pastoris*. Белки поврежденного зерна (дорожки 1 и 7), культуральной жидкости, содержащей протеиназу РР-3 (2-5) и протеиназу РР-2 (6), разделены методом ИЭФ и протеиназы идентифицированы с помощью глютеинового реплики. Белки треков 2-5 предварительно обработаны иммобилизованным трипсином в течение 10, 60 и 120 мин. М и С - позиции белков метчиков ИЭТ (7.3 и 10.6 соответственно).

Важно отметить, что компонент протеиназы выявлялся лишь в среде, полученной после инокуляции колоний *P. pastoris*, для которых присутствие изучаемого гена было подтверждено с помощью ПЦР. Однако ИЭТ рекомбинантной протеиназы была существенно ниже, чем у главных компонентов протеиназ из поврежденных зерен (рис. 5, 1 и 7). Это отличие может быть следствием неодинаковых условий осуществления укладки нативных и рекомбинантных полипептидных цепей после их синтеза в клетках насекомых и дрожжей. Кроме того, в составе данного варианта рекомбинантного продукта отсутствовал пропептид, необходимый для правильного формирования структуры многих сериновых протеиназ.

Исходя из этого была осуществлена гетерологичная экспрессия в *P. pastoris* последовательности, кодирующей полноразмерный фермент с сигнальным пептидом, пропептидом и зрелой протеиназой. Существенной проблемой данного подхода является то, что протеиназа синтезируется в форме неактивного зимогена. В природных условиях в пищеварительных органах животных зимоген превращается в активный фермент под действием автолиза или другой протеиназы, например энтерокиназа преобразует трипсиноген в трипсин, отщепляя гексапептидную последовательность с N-конца зимогена. Подобный фермент для протеиназы GHP3 неизвестен, а ее субстратная специфичность и аминокислотная последовательность, установленные ранее (Konarev et al., 2011), делают вариант автолиза маловероятным. Исходя из данных по первичной структуре GHP3, а именно наличия остатка аргинина в C-конце пропептида, мы предположили, что пропептид может быть отделен обработкой трипсином, как и в случае зимогенов ряда других сериновых протеиназ (Takayama et al., 1997).

Экспрессия в клетках *P. pastoris* копии кДНК, кодирующей полноразмерную протеиназу, по данным электрофореза и имму-

ноблоттинга, сопровождалась специфичным накоплением в культуральной жидкости белка с молекулярной массой около 33 кДа. Инкубация с иммобилизованным трипсином привела к появлению в культуральной жидкости нового компонента (РП-3) с молекулярной массой около 28 кДа, что соответствовало размеру протеиназы РП-2, экспрессированной без пропептида. Это сопровождалось появлением в обработанной культуральной жидкости протеолитической активности, выявляемой с помощью глютеиновой реплики после ИЭФ белков (рис. 5, дорожки 4 и 5). Компонент, соответствующий РП-3, был ближе к нативной протеиназе по ИЭТ, чем РП-2. В необработанной трипсином или обработанной в течение слишком короткого времени (10 мин) культуральной жидкости активные компоненты не обнаруживались (дорожки 2 и 3). Все три полученные активные рекомбинантные формы протеиназы (РП-1, РП-2 и РП-3) по размеру были близки к величине, рассчитанной для природной GHP3 на основании анализа аминокислотной последовательности, а также электрофоретическим компонентам очищенной протеиназы вредной черепашки из поврежденных зерен пшеницы (рис. 2, треки 8-11), и одному из компонентов белков, выделенных из слюнных желез (трек 7). Протеиназы РП-2 и РП-3, как и описанная выше протеиназа РП-1 (рис. 4), обладали способностью гидролизовать высокомолекулярные субъединицы глютеина разных сортов мягкой и твердой пшеницы.

Ранее было установлено, что протеиназа, выделенная из зерен, поврежденных вредной черепашкой, специфично гидролизует связь между гекса- и нонапептидными повторяющимися последовательностями HMW-Gn (Konarev et al., 2011). В настоящей работе изучаемые протеиназы были сопоставлены по способности гидролизовать рекомбинантные модельные аналоги HMW-Gn, созданные N.Wellner и др. (2006) и отличающиеся по аминокислотным последовательностям повторяющихся элементов (рис. 6).

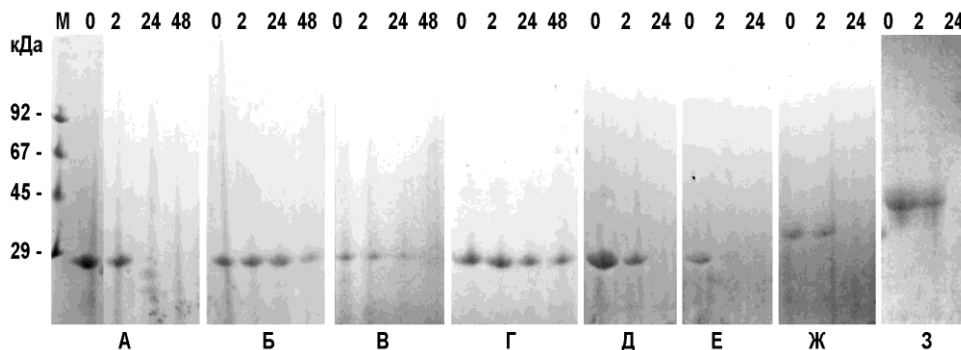


Рис. 6. Гидролиз модельных аналогов глютенина и глиадина нативными и рекомбинантными протеиназами вредной черепашки. Белки после инкубации с протеиназами в течение 0-48 часов разделены ДСН-электрофорезом, гели окрашены кумасси G-250. Гели А, Б и Д - полипептид R1N5; В и Е - R1X5; Г - R3N3; Ж - А6; З - глиадин. Белки инкубированы с протеиназами из поврежденного зерна (А), РР-2 (Б, В и Г) и очищенной РР-3 (Д-З).

### Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в слюнных железах вредной черепашки синтезируется сложный комплекс гидролизующих клейковину протеолитических ферментов, в котором преобладают формы с молекулярной массой 28-31 кДа, причем более высокомолекулярные формы, возможно, являются зимогенами. В зерне, поврежденном данным вредителем, присутствуют сериновые протеиназы с молекулярной массой около 28 кДа. Протеиназы, выявляемые в поврежденном зерне с помощью глютениновой реплики после ИЭФ белков, лишь частично совпадают с протеиназами слюнных желез по компонентному составу. Это может быть связано с вторичными модификациями протеиназ при секреции, отличиями в составе протеиназ, присутствующих в слюнных железах, и секрете, вводимом в зерно при питании, а также неодинаковой способностью компонентов секрета сохранять активность при созревании и хранении поврежденного зерна. Протеиназы, выделенные из образцов зерна, поврежденного клопами рода *Eurygaster* в России и Турции, сходны по молекулярной массе и способности гидролизовать глютенины пшеницы, но отличаются по составу компонентов при ИЭФ. Эти результаты, как и данные наших предыдущих исследований, позволяют предполо-

жить, что гидролизующие глютенин протеиназы представителей рода *Eurygaster* различного происхождения имеют, в целом, сходную структуру, а незначительные отличия связаны с отдельными аминокислотными заменами и вторичными модификациями.

Возможности дальнейшего изучения свойств протеиназ вредной черепашки могут существенно расшириться за счет использования их рекомбинантных форм. В результате исследований установлено, что гетерологичная экспрессия фермента в клетках дрожжей *P.pastoris* в форме зимогена с собственным сигнальным пептидом и последующим отщеплением пропептида трипсином позволяет получить активную форму гидролизующей глютенин протеиназы черепашки, близкую по свойствам природной протеиназе слюнных желез, и, таким образом, наиболее пригодную для дальнейших исследований. Активная форма, полученная экспрессией зрелой протеиназы в дрожжах, в большей степени отличается от природной протеиназы по свойствам и специфичности. Экспрессия в бактериях также позволяет получить активный фермент, однако для практического использования данный подход требует доработки. Результаты проведенных исследований расширяют представления о пищеварительных протеиназах хлебных

клопов и могут быть использованы при решении широкого круга проблем защиты растений и в пищевых технологиях.

Работа выполнена при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-08-00885).

Авторы благодарны докторам J.Marsh, A.Lovegrove и профессору P.Shewry (Rothamsted Research, Великобритания) за предоставление пептидных аналогов глютеина и препаратов ДНК и профессорам D. Sivri Ozay и H.Koksel (Nacettepe University, Турция) за образцы поврежденного зерна.

#### Литература

- Алехин В.Т. Вредная черепашка // Защита и карантин растений, 2002, 4, с. 65(1)-91(27).
- Вилкова Н.А., Экман-Буринская Н.В. Некоторые аспекты белкового питания вредной черепашки *Eurygaster integriceps* Put. на различных по устойчивости сортах пшеницы.// Труды ВИЗР, 1977, 52, с. 39-44.
- Вилкова Н. А., Конарев А. В. Современные проблемы иммунитета растений к вредителям // Вестник защиты растений, 2010, 3, с. 3-15.
- Гапонов С. Н., Васильчук Н. С., Шутарева Г. И. Влияние вредной черепашки (*Eurygaster integriceps* Put.) на качество зерна твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) // Аграрный вестник Юго-Востока, 2009, 2, с. 23-26.
- Каменченко С.Е., Лебедев В.Б., Наумова Т.В. Вредность клопа вредная черепашка (*Eurygaster integriceps*) и качество зерна // Аграрный вестник Юго-Востока, 2010, 1, с. 36-37.
- Капусткина А.В., Нефедова Л.И. Прорастание и морфогенез семян пшеницы при повреждении вредной черепашкой // Вестник защиты растений, 2013, 2, с. 48-55.
- Конарев Ал.В., Конарев А.В., Нефедова Л.И., Губарева Н.К., Д.Сиври Озай. Анализ полиморфизма гидролизующих клейковину протеиназ в зерновках пшеницы, поврежденных вредной черепашкой *Eurygaster integriceps* Put. и родственными ей клопами // Доклады РАСХН, 2013, 5, с. 7-11.
- Крупнов В. А. Селекция пшеницы на устойчивость к вредным клопам (*Eurygaster* spp.): нет ли риска? // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2011, 15, 3, с. 572-578.
- Мосолов В. В., Валуева Т. А. // Ингибиторы протеиназ в биотехнологии растений. Прикл. биохим. и микробиол., 2008, 44, 3, с. 261-269.
- Павловский Е.Н. Методы ручного анатомирования насекомых. М., Л.: Изд-во АН СССР, 1957, 87 с.
- Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Нефедова Л.И. Вредная черепашка: распространение, вредность, методы контроля // Защита и карантин растений, 2010, 1, с. 53(1)-84(32).
- Фасулати С. Р. Формирование внутривидовой структуры у насекомых в условиях агроэкосистем на примерах колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824 (Coleoptera, Chrysomelidae) и вредной черепашки *Eurygaster integriceps* Puton, 1881 (Heteroptera, Scutelleridae) // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Біологія, 2010, 29, с. 13-27.
- Avrutina O., Fittler H., Glotzbach B., Kolmar H., Empting M. Between two worlds: a comparative study on in vitro and in silico inhibition of trypsin and matrilysin by redox-stable SFTI-1 variants at near physiological pH // Organic and Biomolecular Chemistry, 2012, 10, 38, p. 7753-7762.
- Blagoveschensky A.V., Sossiedov N.I. The gluten-dissolving ferment of wheat and barley seeds // Biochemical Journal, 1933, 27, 5, p. 1575-1577.
- Critchley B.R. Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae) // Crop Protection, 1998, 17, 4, p. 271-287.
- Darkoh C., El-Bouhssini M., Baum M. and Clack B. Characterisation of a prolyl endoprotease from *Eurygaster integriceps* Puton (Sunn pest) infested wheat // Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2010, 74, 3, p. 163-178.
- Dewar D.H., Amato M., Ellis H.J., Pollock E.L., Gonzalez-Cinca N., Wieser H., & Ciclitira, P. J. The toxicity of high molecular weight glutenin subunits of wheat to patients with coeliac disease // European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 2006, 18, 5, p. 483-491.
- Dolgikh V.V., Senderskiy I.V., Pavlova O.A., Naumov A.M., Beznoussenko G.V. Immunolocalization of an alternative respiratory chain in *Antonospora* (Paranosema) locustae spores: Mitosomes retain their role in microsporidial energy metabolism // Eukaryotic cell, 2011, 10, 4, p. 588-593.
- Dunaevsky Ya.E., Elpidina E.N., Vinokurov K.S., Belozersky M.A. Protease inhibitors in improvement of plant resistance to pathogens and insects // Molecular Biology, 2005, 39, 4, p. 608-613.
- Elpidina E., Goptar I. Digestive peptidases in *Tenebrio molitor* and possibility of use to treat celiac disease // Entomol. Res., 2007, 37, p.139-147.
- Every D., Sutton K.H., Shewry P.R., Tatham A.S., Coolbear T. Specificity of action of an insect proteinase purified from wheat grain infested by the New Zealand wheat bug, *Nysius huttoni* // J. Cereal Sci., 2005, 42, p. 185-191.
- Fatehi F., Behamta M. R., Zali A.A. Evaluating the resistance to sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put.) and its relationship with high-molecular-weight glutenin subunit in wheat. Proc. 11th Int. Wheat Genet. Symp., Brisbane, Australia, Sydney University Press, 2008, 3, p. 741-743.
- Ganesan R., Eigenbrot C., Kirchofer D. Structural and mechanistic insight into how antibodies inhibit serine proteases // Biochem J., 2010., 430, 2, p. 179-189.
- Gasbarrini G.B., Mangiola F., Gerardi V., Ianiro G., Corazza G.R., & Gasbarrini A. Coeliac disease: an old or a new disease? History of a pathology. // Internal and Emergency Medicine, 2014, 9, p. 1-8.

Gatehouse J.A. Prospects for using proteinase inhibitors to protect transgenic plants against attack by herbivorous insects // *Current Protein and Peptide Science*, 2011, 12, 5, p. 409-416.

Hariri G., Williams P.C., Jaby E.L., Hareme F. Influence of Pentatomidae insects on the physical dough properties and two layered flat-bread baking quality of Syrian wheat // *J.Cereal Sci.*, 2000, 31, p.111-118.

Jamal F., Pandey P.K., Singh D., Khan M.Y. Serine protease inhibitors in plants: nature's arsenal crafted for insect predators // *Phytochemistry Reviews*, 2012, p. 1-34.

Konarev A.V., Anisimova I.N., Gavrilova V.A., Rozhko-va V.T., Fido R., Tatham A.S., P. R. Shewry // Novel proteinase inhibitors in seeds of sunflower (*Helianthus annuus* L.): polymorphism, inheritance and properties // *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, 100, 1, p. 82-88.

Konarev A.V., Beaudoin F., Marsh J., Vilkova N.A., Nefedova L.I., Sivri D., Koxsel H., Shewry P.R., Lovegrove A. Characterization of a glutenin-specific serine proteinase of sunn bug *Eurygaster integriceps* Put. // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59, 6, p. 2462-2470.

Konarev A.V., Lovegrove A. Novel detection methods used in conjunction with affinity chromatography for the identification and purification of hydrolytic enzymes or enzyme inhibitors from insects and plants // In: Magdeldin S. (Ed.) *Affinity Chromatography*, InTech, 2012, p. 187-210.

Kretovich V.L. Biochemistry of the damage to grain by the wheat-bug // *Cereal Chem.*, 1944, 21, p. 1-16.

Laemmler U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*, 1970, 227 (5259), p. 680-685.

Ling M., Merante F., Robinson B.H. A rapid and reliable DNA preparation method for screening a large number of yeast clones by polymerase chain reaction // *Nucleic Acids Res.*, 1995, 23, p. 4924-4925.

Luckett S., Garcia R.S., Barker J.J., Konarev A.V., Shewry P.R., Clarke A.R., Brady R.L. High-resolution structure of a potent, cyclic proteinase inhibitor from sunflower seeds // *Journal of molecular biology*, 1999, 290, 2, p. 525-533.

Mika N., Zorn H., Rühl M. Insect-derived enzymes: a treasure for industrial biotechnology and food biotechnology. In *Yellow Biotechnology II*, Springer Berlin Heidelberg, 2013, p. 1-17.

Olanca B., Sivri Ozay D. Preparation and functional properties of gluten hydrolysates with wheat-bug (*Eurygaster spp.*) protease // *Cereal Chemistry*, 2010, 87, 6, p. 518-523.

Pena A.S. Immunogenetics of non celiac gluten sensitivi-

ty // *Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench*, 2014, 7, 1, p. 1-5.

Salis L., Goula M., Izquierdo J., Gordún E. Population density and distribution of wheat bugs infesting durum wheat in Sardinia, Italy // *Journal of Insect Science*, 2013, 13, 50.

Sivri D., Koxsel H. Characterisation and partial purification of gluten hydrolysing proteinase from bug (*Eurygaster spp.*) damaged wheat // In *Wheat Gluten*, Royal Society of Chemistry: London, 2000, p. 526-530.

Sivri D., Sapirstein H. D., Bushuk W., Köksel H. Wheat intercultivar differences in susceptibility of glutenin protein to effects of bug (*Eurygaster integriceps*) protease // *Cereal Chemistry*, 2002, 79, 1, p. 41-44.

Stenman S. M., Venäläinen J. I., Lindfors K., Auriola S., Mauriala T., Kaukovirta-Norja A., Jantunen A., Laurila K., Qiao S.-W., Sollid L.M., Männistö P.T., Kaukinen K., Mäki M. Enzymatic detoxification of gluten by germinating wheat proteases: implications for new treatment of celiac disease // *Annals of medicine*, 2009, 41, 5, p. 390-400.

Takayama T.K., Fujikawa K., Davie E.W. Characterization of the precursor of prostate-specific antigen activation by trypsin and by human glandular kallikrein // *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272, 34, p. 21582-21588.

Torbica A.M., Mastilović J. S., Pojić M.M., Kevrešan Ž.S. Effects of wheat bug (*Eurygaster spp.* and *Aelia spp.*) infestation in preharvest period on wheat technological quality and gluten composition // *The Scientific World Journal*, 2014, Article ID 148025 (<http://dx.doi.org/10.1155/2014/148025>).

Vaccino P., Corbellini M., Reffo G., Zoccatelli G., Migliardi M., Tavella L. Impact of *Eurygaster maura* (Heteroptera: Scutelleridae) feeding on quality of bread wheat in relation to attack period // *Journal of Economic Entomology*, 2006, 99, 3, p. 757-763.

Wellner N., Marsh J.T., Savage A.W., Halford N.G., Shewry P.R., Mills E.N.C., Belton P.S. Comparison of repetitive derived from high molecular weight subunits of wheat glutenin, an elastomeric plant protein // *Biomacromolecules*, 2006, 7, p. 1096-1103.

Werteker M., Kramreither G. Relation between susceptibility to wheat bug attack and digestibility of glutenin // *Journal of Cereal Science*, 2008, 47, 2, p. 226-232.

Zoller F., Markert A., Askoxyllakis V., Altmann A., Barthe P., Weichert W., Zhao W., Mier W., Haberkorn U. Combination of phage display and molecular grafting generates highly specific tumor-targeting miniproteins // *Angewandte Chemie - Int. Edition*, 2012, 51, 52, p. 13136-13139.

#### PROPERTIES OF NATURAL AND RECOMBINANT SUNN PEST (EURYGASTER INTEGRICEPS) SALIVARY GLAND PROTEINASES HYDROLYZING WHEAT GLUTEN

Al.V.Konarev, V.V.Dolgikh, I.V.Senderskii, L.I.Nefedova, A.V.Konarev, N.K.Gubareva

Sunn pest salivary glands proteinases hydrolyzing wheat gluten and deteriorating quality of flour are of interest as economically important factors of harmfulness, potential markers for the diagnostics of damage to grain, as well as modifiers of gluten. Development of approaches to reduce harm from action of pest enzymes requires study of their natural and recombinant forms. Three active recombinant forms of one of the proteinases synthesized in the salivary glands of bugs have been obtained using methods of heterologous expression in bacterial and yeast cells. The properties of glutenin hydro-

lyzing proteinases from damaged grains, salivary glands and also recombinant forms have been investigated and compared. The degree of similarity of natural and recombinant enzymes of the pest, efficiency of expression variants and possible applications of the results obtained are discussed.

*Keywords:* *Eurygaster integriceps*, *salivary gland*, *damaged grain*, *proteinase*, *gluten*, *glutenin*, *glutenin replica*, *heterologous expression*, *Pichia pastoris*, *recombinant enzyme*.

Ал.В.Конарев, д.б.н., al\_konarev@hotmail.com

В.В.Долгих, к.б.н., dollslav@yahoo.com

И.В.Сендерский, sen54@mail.ru

Л.И.Нефедова, к.б.н., vizrspb@mail333.com

А.В.Конарев, д.б.н., a.konarev@vir.nw.ru

Н.К.Губарева, к.б.н., nk-gubareva@yandex.ru



УДК 633.1:631.526.32:632.754

## ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВРЕДНОЙ ЧЕРЕПАШКИ

Л.И. Нефедова, А.В. Капусткина

*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург*

Представлены результаты исследования цитофизиологической реактивности разных сортов пшеницы на воздействие вредной черепашки. В качестве цитофизиологического маркера потенциальной (скрытой) вредоносности клопов предложены показатели, характеризующие относительную долю распределения клеток, находящихся в интерфазе и на разных фазах митоза в клетках меристемы зародышевых органов проростков. Опосредованные сложные взаимодействия между вредной черепашкой и пшеницей на тканевом уровне могут приводить к существенным отклонениям морфофизиологического состояния растений, и в дальнейшем сказываться на изменении посевных качеств зерна и потенциальной продуктивности растений.

*Ключевые слова:* пшеница, зерновка, меристема зародыша, гидролазы вредной черепашки, митотический цикл, цитофизиологическая реактивность.

Вредная черепашка большую часть онтогенеза связана с кормовыми растениями и относится к группе насекомых, у которых пищеварительные процессы проходят не только в полости кишечника, но за его пределами и частично осуществляются внекишечно непосредственно пищеварительными ферментами слюнных желез. Множественность ферментов, выявленных в слюнных железах, служит доказательством комплексного воздействия клопов на растительные ткани, что имеет принципиальное значение в понимании характера их вредоносности (Вилкова, 1980; Павлюшин и др., 2013). Эта особенность ферментных ансамблей находится в соответствии как со спецификой биохимического состава растительных тканей, большой удельный вес в которых составляют углеводы, так и со спецификой метаболизма фитофагов, как организмов высоко требовательных к энергетическому обеспечению в связи с высокой локомоторной подвижностью и плодовитостью.

Реактивность - одна из основных форм связи и взаимодействия организма с внешней средой как единой системы; реактивность растений - это способность определенным образом реагировать на воздействие различного рода стрессовых факторов, в частности вредителей. Характер воздействия этих факторов служит пусковым механизмом в тканевых преобразованиях, имеющим в большинстве случаев компенсаторно-приспособительный смысл. Под реактивностью тканей с гистоген-

нетических позиций следует понимать изменение закономерностей пролиферации, дифференцировки, интеграции клеток, межклеточных взаимодействий, процессов гистогенеза, происходящих под воздействием внешних факторов в ответ на повреждение. Установлено, что наиболее реактивными тканями у растений являются меристема, паренхима, клетки эпидермы и трихом, обладающие проспективной потенциальностью. При самых разнообразных воздействиях меристема реагирует, прежде всего, понижением или повышением степени пролиферации клеток. В связи с этим изучение реактивности зародышевых тканей у разных сортов пшеницы при воздействии вредной черепашки имеет важное иммунологическое значение в выявлении механизмов и их маркеров на клеточном уровне, определяющих ее потенциальную вредоносность.

Следует сказать, что изучение реактивности тканей зародыша на воздействие вредной черепашки - это проявление опосредованного действия пищеварительных ферментов вредителя, сохранившихся в зрелой зерновке.

Детальный анализ нарушений, происходящих в зрелых зерновках пшеницы при их повреждении вредной черепашкой, показал, что вредоносность клопов затрагивает глубинные процессы формирования не только эндосперма, но и органов зародыша (Капусткина, 2009; Павлюшин и др., 2013.)

Исходя из этого основной задачей наших исследований было изучение характера цито-

физиологической реактивности тканей зародыша зерновок разных сортов пшеницы на воздействие вредной черепашки с целью выявления особенностей проявления ее скрытой вредоносности на клеточном и тканевом уровнях, которые в дальнейшем определяют формирование уклонений от нормы, распространяющихся на органнй и организменный уровни растений.

Клеточный цикл представляет собой совокупность последовательных и взаимосвязанных процессов в период подготовки клетки к делению (интерфаза) и период ее деления (митоз). Интерфаза подразделяется на 3 периода: пресинтетический ( $G^1$ ), синтетический (S) и постсинтетический ( $G^2$ ). В пресинтетический и синтетический периоды в клетке усиленно происходит синтез РНК, белков и активных ферментов, участвующих в синтезе ДНК, и удвоение ДНК хромосом. Постсинтетический период завершается подготовкой к митозу: накапливается АТФ, синтезируются белки аппарата клеточного деления, масса клетки увеличивается вдвое по сравнению с первоначальной. Подготовительные процессы к митозу протекают как параллельно, так и последовательно по принципу "параллельных путей" (Мэзия, 1963).

#### **Методика исследований**

Анализ митотического режима клеток меристемы зародышевых корней при различной степени поврежденности зерновок вредной черепашкой был проведен на 7 сортах пшеницы, репродуцированных в Краснодарском крае, Ростовской и Саратовской областях. Отбор проб для анализа поврежденности зерна клопами (5 проб по 100 зерновок в каждой) производился в соответствии с ГОСТ 13586.4-83 "Зерно. Методы определения зараженности и поврежденности вредителями". Диагностику и определение степени поврежденности зерновок проводили по 5-балльной шкале, разработанной в лаборатории энтомологии и иммунитета растений к вредителям ВИЗР (Вилкова и др., 1976). Для проведения исследований по каждому сорту было выделено 3 фракции зерновок: 1- зерновки, не имеющие повреждений клопами (контроль); 2- зерновки, поврежденные по 1-2 баллам; 3- зерновки, поврежденные по 3-4 баллам. В каждой фракции содержалось 100 зерновок (2 повторности по 50 зерновок). Проращивание зерновок проводили в термостате ТПС-3 при 20°C. Зародышевые корни длиной 5-10 мм одновременно фиксировали в измененном Карнуа (спирт этиловый - ледяная уксусная кислота в соотношении 3:1). После фиксации материал отмывали 70% этиловым спиртом и оставляли для хране-

В ходе митоза условно выделяют два контрольных периода: 1 - от начала профазы до анафазы; 2 - от анафазы до телофазы. Каждый из периодов начинается с прохождения контрольной точки. Точки контроля клеточного цикла представляют собой механизмы, предохраняющие клетку от летальных митозов. Первая контрольная точка - это переход из постсинтетического периода интерфазы в митоз. Для преодоления этой точки главным условием является завершенная репликация ДНК. В этот период старт митотического деления может быть заблокирован при повреждении или неоконченной репликации ДНК. Вторая контрольная точка служит разделительным барьером на границе метафаза - анафаза. При этом критическим показателем является состояние веретена деления - вступление в анафазу блокируется в случае нарушения его целостности.

Поскольку вредитель предъявляет высокие требования к энергетическому обеспечению и обладает множественностью ферментов гидролиза субстрата, которые, присутствуя в поврежденной зерновке, являются важными факторами для раскрытия причинно-следственных связей во взаимодействиях вредной черепашки с кормовыми растениями.

В спирте той же концентрации. Препараты окрашивали 5% раствором ацетокармина (55 мл дистиллированной воды, 45 мл ледяной уксусной кислоты, 5 г кармина), приготовленного на водяной бане. Изготовление (10-15 препаратов по каждому варианту опыта) и их анализ (10 полей зрения на каждом препарате) проводили под микроскопом Carl Zeiss Jena при увеличении 40x1.5x10 (Фурст, 1979; Паушева, 1988). Описание патологических митозов проводили согласно работам И.А.Алова (1965); Н.Н.Ильинских и др. (2003), О.С.Машкиной и др. (2009). Всего было проанализировано более 80 тыс. клеток меристемы зародышевых корней. Продолжительность и сопряженность периодов митотического цикла в меристеме зародыша разных сортов пшеницы определяли в соответствии с общепринятым цитогенетическим показателем - относительной частотой (долей) распределения клеток, находящихся в интерфазе (И) и на разных фазах митоза (М).

Степень достоверности различий между вариантами определяли через сравнение пределов, в которых лежит их среднеарифметическое значение. Нормированное отклонение разности (td) оценивали в сравнении со стандартной величиной отклонений (по Стьюденту) при доверительной вероятности 0.05 и 0.001.

### Результаты исследований

Для сравнительного анализа продолжительности и сопряженности прохождения периодов митотического цикла в клетках меристемы зародышевых корней по соотношению доли клеток, находящихся в интерфазе (И) и на разных фазах митоза (М), выраженному в относительных единицах, исследуемые сорта в контрольных вариантах были разделены на 3 группы (рис.). 1 группа - Юка, Краснодарская 38 - сорта, характеризующиеся относительно короткой интерфазой, с показателем соотношения интерфазы к митозу И:М = 1.2-1.5; 2 группа - Августа, Сила, Коллега - со средней интерфазой И:М = 2.3-2.5; 3 группа - Саратовская 55, Джангаль с относительно длинной

сходящей к 1 группе, наоборот, характеризуется увеличением (на 13.4% по отношению к контролю) доли клеток в интерфазе у зерновок, поврежденных как по 1-2 баллам, так и по 3-4 баллам.

Наиболее сильные изменения в сопряженности и продолжительности периодов митотического цикла отмечены у сортов 3 группы, характеризующихся длинной интерфазой (И:М= 5-7.5). Так, у сорта Саратовская 55 в меристеме зародышевых корней поврежденных зерновок в 1.2-1.4 раза снижается доля клеток, вступающих в митоз, по отношению к контролю. У сорта Джангаль в варианте с поврежденностью зерновок по 1-2 баллам отмечено снижение этого показателя в 1.3 раза, а в варианте с поврежденностью зерновок по 3-4 баллам происходит увеличение в 1.2 раза доли клеток, вступающих в митоз, по отношению к контролю.

На наш взгляд, старт митотического деления клеток меристемы зародыша при воздействии пищеварительных ферментов клопов может быть блокирован проявлением гипореактивности вступления клеток в митоз в результате изменения его регуляторных функций, определяющих интенсивность пролиферации клеток. Проявление митодепрессии наиболее характерно для сортов Саратовская 55 и Джангаль.

Таким образом, наблюдаемые изменения в продолжительности и сопряженности периодов интерфазы и митоза, проявляющиеся в различной реактивности клеток меристемы зародыша на воздействие вредной черепашки, определяются морфофизиологическими особенностями сорта пшеницы.

К критическим фазам клеточного цикла, в которых может происходить их временная остановка, относят переход клетки к собственно митозу. Анализ частоты встречаемости клеток, находящихся в различных фазах митоза, показал, что при поврежденности зерновок вредной черепашкой (как по 1-2, так и по 3-4 баллам) у сортов пшеницы с относительно короткой интерфазой - Юка, Краснодарская 38 и сорта Сила со средней продолжительностью интерфазы наблюдается снижение доли клеток в профазе от 2.9 до 10.7% и рост доли клеток, находящихся в анафазе и

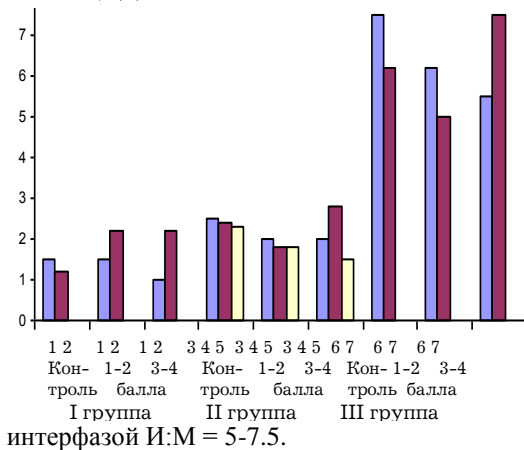


Рис. Показатель соотношения интерфазы к митозу (И:М) в клетках меристемы зародыша у групп сортов пшеницы при повреждении вредной черепашкой

- 1- Юка, 2- Краснодарская 38, 3- Августа,  
4- Сила, 5- Коллега, 6- Саратовская 55,  
7- Джангаль

Выявлено, что у сортов 2 группы наблюдается снижение доли клеток в интерфазе, которое в зависимости от степени поврежденности зерновок клопами составляет у сорта Августа от 5.0 до 5.5%, сорта Сила - от 5.6 до 6.7% и сорта Коллега - от 8.6 до 9.4%. У сорта Юка, характеризующегося относительно короткой интерфазой (И:М=1.5), значения этого показателя при повреждении зерновок по 1-2 баллам не отличаются от контроля; при повреждении зерновок по 3-4 баллам происходит незначительное снижение (на 3.5%) доли клеток в интерфазе. Сорт Краснодарская 38, также отно-

телофазе, от 2.5 до 16.9% по отношению к контролю (табл.).

Таблица. Частота распределения клеток меристемы зародышевых корней в различные фазы митоза при повреждении зерновок пшеницы вредной черепашкой

Сорта	Вариант	Про-фаза	Мета-фаза	Анафа-за+тело-фаза
Юка	контроль	71.1	13.5	15.4
	1-2 балл	61.0**	9.7**	32.3**
	2-4 балл	61.4**	12.5	26.1**
Красно-дарская 38	контроль	89.0	2.5	8.5
	1-2 балл	79.8**	6.3**	13.9**
	3-4 балл	78.3**	7.2**	14.5**
Августа	контроль	70.0	8.0	12.0
	1-2 балл	78.5**	6.0**	15.5**
	3-4 балл	72.6**	7.8**	19.6**
Сила	контроль	83.2	4.6	12.2
	1-2 балл	73.9**	5.2**	20.9*
	3-4 балл	80.3**	4.0	14.7*
Коллега	контроль	80.2	8.7	11.1
	1-2 балл	85.**6	6.5**	7.9**
	3-4 балл	86.**5	5.4**	8.1**
Саратовская 55	контроль	72.2	15.0	12.8
	1-2 балл	76.**8	9.9**	13.3*
	3-4 балл	85.**7	7.5**	6.8*
Джангаль	контроль	80.4	11.3	8.3
	1-2 балл	77.5**	9.8**	12.7*
	3-4 балл	97.3**	7.5**	1.4**

tst = 3.29, p = 0.001 (по Стьюденту).

\*p = 0.05, p = 0.001.

У сорта Коллега отмечается рост доли клеток в профазе по отношению к контролю от 5.4 до 6.3% и снижение доли клеток в метафазе от 2.2 до 3.3% по отношению к контролю, анафазе и телофазе от 3.0 до 3.2% соответственно.

Сорта с длинной интерфазой - Саратовская 55 и Джангаль отличаются ростом доли клеток в профазе от 4.6 до 16.9%, снижением доли клеток в метафазе от 1.5 до 5.1%; при повреждении зерновок по 1-2 баллам происходит увеличение доли клеток от 0.5 до 4.4%; а при повреждении зерновок по 3-4 баллам - снижением доли клеток в анафазе и телофазе от 6.0 до 6.9% по сравнению с контролем.

Изменение продолжительности и сопряженности прохождения клетками профазы митоза может быть связано с активацией системы проверки целостности генетического материала действием механизмов checkpoint (Епифанова, 2003; Омелянчук и др., 2004;

Машкина и др., 2009). Известно, что продукты checkpoint-генов считают целостность ДНК и способствуют задержке клеточного цикла в случае обнаружения повреждений. Это позволяет рассматривать происходящие в период профазы изменения как синтаксические реакции механизма адаптации на воздействие вредной черепашки. Временная задержка клеток в профазе отмечена для сортов Августа, Коллега, Саратовская 55 и Джангаль, которая в большей мере может иметь репарационную направленность в виде проявления защитно-восстановительных реакций генотипа.

Переход клетки от метафазы к анафазе также сопровождается проверкой целостности генетического материала системой mid-anaphase-checkpoint. В этой контрольной точке осуществляется проверка правильности сборки аппарата деления клетки, в том числе веретена и прикрепления к нему хромосом, состоящие кинетохоров, что обеспечивает правильную агрегацию хромосом. Аппарат клеточного деления обеспечивает движение хромосом, связывание между собой сестринских хроматид, регуляцию и их последующее разделение в анафазе митоза.

При обнаружении слабых эффектов (ошибок) циклин-киназного комплекса включается система ликвидации повреждений ДНК и восстановление ее исходной структуры. Если повреждения ДНК значительны и их исправления не происходит, клетка самоуничтожается с помощью апоптоза, либо вступает далее в aberrantное деление. Вступление в анафазу блокируется в случае дефектов аппарата деления клеток.

События, происходящие в клетках меристемы зародыша под воздействием пищеварительных ферментов вредной черепашки, на границе "метафаза-анафаза", могут отражать блокировку вступления клеток в телофазу. Этот факт четко проявляется у большей части исследуемых сортов пшеницы - Юка, Краснодарская 38, Августа, Сила.

Нарушение нормального течения митоза приводит к возникновению различной патологии, условно разделяющейся на два типа: функциональную и органическую. Функциональная патология отражает гипореактивность (ареактивность) вступающих в митоз клеток, вызванную снижением регуляторных реакции митоза, определяющих интенсивность проли-

ферации клеток. Органическая патология - это повреждение структур, участвующих в митотическом делении (хромосомы, митотический аппарат, клеточная поверхность), а также нарушение процессов репликации ДНК, образования веретена деления, движения хромосом, нарушение цитокинеза. Среди возникающих патологических состояний выделяют 3 основные группы патологии митоза (Алов, 1965, 1972), характерных не только для животных, но также и для растительных организмов: первая группа связана с нарушением хромосом; вторая - с повреждением митотического аппарата; третья группа связана с нарушением цитокинеза, внутри которой различают ранний цитокинез, берущий начало в анафазе, и его запаздывание или отсутствие.

Результаты наших исследований показывают, что повреждения зерновок вредной черепашкой также сопровождаются появлением патологических митозов, меняющих митотический режим клеток. В процессе деления клеток зародыша зерновок, поврежденных клопами, установлен спектр различных патологических отклонений от нормы. У сортов Августа, Коллега, Саратовская 55 и Джангаль в клеточной популяции меристемы зародыша поврежденных клопами зерновок по показателю увеличения доли профазных клеток были обнаружены нарушения митоза, относящиеся к первой группе патологии. Подобные

изменения при делении клеток могут происходить в процессе нарушения синтеза ДНК при редупликации хромосом и проявляться в случае возникновения стрессовых ситуаций. В некоторых случаях наблюдали фрагментацию хромосом, которая в дальнейшем приводила к образованию микроядер, не участвующих в метакинезе. Образование мостов в анафазе, наблюдаемое нами у сортов Джангаль и Августа при повреждении зерновок по 3-4 баллам, нарушает течение завершающих фаз деления и задерживает цитокинез. По причине дезорганизации клеточного аппарата может происходить задержка митоза в метафазе, которая обнаруживается по увеличению доли метафазных клеток. Такого рода патология наблюдалась только у сорта Краснодарская 38. Незавершенные митозы, характеризующиеся увеличением в клеточной популяции доли клеток, находящихся в анафазе и телофазе, приводят к запаздыванию или к прекращению цитокинеза и возникновению двуядерных и многоядерных клеток за счет объединения не разошедшихся наборов хромосом, то есть к эндорепродукции - увеличению содержания ДНК в клетке. Накопление клеток в анафазе и телофазе, запаздывание или отсутствие цитокинеза отмечено у большей части исследуемых сортов - Юка, Краснодарская 38, Августа, Сила, Саратовская 55 и Джангаль.

### **Заключение**

Поскольку вредитель предъявляет высокие требования к энергетическому обеспечению и обладает множественностью ферментов гидролиза субстрата, которые, присутствуя в поврежденной зерновке, могут включаться в метаболизм клеток меристемы зародыша, рассмотренные выше события, происходящие в митотическом цикле клетки, являются важными для раскрытия причинно-следственных связей во взаимодействиях вредной черепашки с кормовыми растениями на тканевом и организменном уровнях.

Реактивный переход клеток к делению при воздействии пищеварительных ферментов вредной черепашки выражается, прежде всего, в понижении или повышении пролиферативной активности клеток меристемы зародышевых корней. Известно, что реактивные изменения клеток (угнетение митозов или вспышка митотической активности), выходящие за

пределы диапазона изменчивости параметров, характерных для нормального функционирования ткани, приводят к появлению различных типов нарушений в онтогенезе растений. Выявленные нами изменения в ходе клеточного цикла меристемы зародыша поврежденных зерновок свидетельствуют о проявлении компенсаторных возможностей и разной патологической реактивности ткани в ответ на воздействие вредной черепашки. Временная задержка клеток в профазе, как синтаксическая реакция, отмеченная у сортов Августа, Коллега, Саратовская 55 и Джангаль, в большей мере имеет репарационную направленность в виде проявления защитно-восстановительных реакций генотипа. Блокировка вступления клеток в телофазу, наблюдаемая у большинства анализируемых сортов пшеницы, вызывает подавление вступления дочерних клеток в интерфазу, что может привести к изменению

темпов динамики роста и развития проростков.

Таким образом, опосредованные сложные взаимодействия между вредной черепашкой и пшеницей на тканевом уровне могут приводить к существенным отклонениям морфобиологического состояния растений, что в дальнейшем сказывается на изменении детерминантов посевных качеств семян и потенци-

альной продуктивности формирующихся из них растений. В качестве цитофизиологического маркера, характеризующего потенциальную (скрытую) вредоносность клопов, могут служить цитогенетические показатели - относительная доля распределения клеток, находящихся в интерфазе и на разных фазах митоза в клетках меристемы зародышевых органов проростков.

#### Литература

Алов И.А. Патология митоза // Вестник АМН СССР, 1965, 1, с. 58-66.

Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М., 1972, 1, Медицина, 264 с.

Вилкова Н.А. Физиологические основы теории устойчивости растений к насекомым. Автореф. докт. дисс., Л., ВИЗР, 1980, 48 с.

Вилкова Н.А., Шапиро И.Д., Борщова Т.А. Использование инфракрасной микроскопии для диагностики повреждения и устойчивости зерновок клопами. Методы исследования патологических изменений растений. Л., Колос, 1976, с. 203-209.

Елифанова О.И. Лекции о клеточном цикле. М., КМК, 2003, 160 с.  
Ильинских Н.Н., Новицкий, В.В., Ванчукова Н.Н., Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность. Томск: Изд-во Томского ун-та, 2003, 272 с.

Капусткина А.В. Морфофизиологические особенности прорастания зерновок озимой пшеницы при их повреждении вредной черепашкой. // Вестник защиты расте-

ний, 2009, 4, с. 39-47.

Машкина О.С., Калаев В.Н., Мурая Е.С., Леликова Е.С. Цитогенетические реакции семенного потомства сосны обыкновенной на комбинированное антропогенное загрязнение в районе Новолипецкого металлургического комбината. // Экологическая генетика, 2009, 7, 3, с. 17-27.

Мэзия Д. Митоз и физиология клеточного деления. М., Изд-во Иностран. лит-ра, 1963, 426 с.

Омельячук Л.В., Трунова С.А., Лебедева Л.И., Федорова С.А. Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация. // Генетика, 2004, 40, 3, с. 293-300.

Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Нефедова Л.И., Фасулати С.Р. Фитосанитарная дестабилизация агроэкосистем. СПб, 2013, 183 с.

Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. М., ВО "Агропромиздат", 1988, 271 с.

Фурст Г.Г. Методы анатомо-гистохимического исследования растительных тканей. М., Наука, 1979, 153 с.

## CYTOPHYSIOLOGICAL REACTIVITY OF WHEAT GRADES TO SUNN PEST (EURYGASTER INTEGRICEPS) HARMING ACTIVITY

L.I.Nefedova, A.V.Kapustkina

Research data on cytophysiological reactivity of various wheat grades to the Sunn Pest harming activity are presented. As a cytophysiological marker of the potential (latent) harmfulness of bugs, the indicators are offered, characterizing relative fraction of cell distribution; the cells being in interphase and in different mitosis phases in meristem cells of sprout germinal bodies. The complex interactions between the Sunn Pest and wheat at tissue level can lead to essential deviations in morphophysiological condition of plants, that further affects change of sowing grain quality and potential plant productivity.

*Keywords:* wheat, carypopsis, germ meristem, albumin, *Eurygaster integriceps*, mitotic cycle, cytophysiological reactivity.

Л.И.Нефедова, к.с.-х.н., vizrspb@mail333.com  
А.Л.Капусткина, к.б.н., vizrspb@mail333.com

УДК 632.727/913(470.63)

## СОВРЕМЕННАЯ ФИТОСАНИТАРНАЯ СИТУАЦИЯ ПО СТАДНЫМ САРАНЧОВЫМ НА СТАВРОПОЛЬЕ

В.Г. Коваленков\*, О.В. Кузнецова\*\*, Н.М. Тюрина\*, Ю.В. Никитенко\*\*

\*Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар

\*\*Россельхозцентр по Ставропольскому краю, Ставрополь

Описаны особенности развития, формирования видовых ареалов и численности стадных саранчовых - итальянского пруса, азиатской перелетной и мароккской саранчи. Показаны их фенология, динамика территориального распределения. Выявлено, что усложнение фитосанитарной ситуации происходит за счет скопления на громадной площади насекомых с разновозрастной и разновидовой структурой с численностью до 2600 особей на 1 м<sup>2</sup>, а также сформированной резистентности к применяемым инсектицидам в их популяциях. Проведен подбор и испытание эффективных средств борьбы. Изучена паразитическая активность энтомофага шпанки красноголовой, позволяющая отменять химические обработки. В новых условиях признаны важными углубленный мониторинг и избирательная тактика контроля по срокам, выбору инсектицидов и объемам их применения.

*Ключевые слова:* стадные саранчовые, мониторинг, фенология развития, видовой ареал, резистентность, меры химического контроля, энтомофаг, шпанка красноголовая.

Периодические вспышки размножения саранчовых в мире и России известны давно и нередко принимали характер стихийного бедствия. Поэтому подробно анализировались ортоптерологами (Уваров, 1927; Предтеченский и др., 1935; Цыпленков, 1970). М.В.Столяров (2000), описывая цикличность и некоторые особенности массовых размножений итальянского пруса (*Calliptamus italicus* L.) на юге России, подчеркивал, что масштабы вспышки определяются "спецификой сложившихся местных условий в конкретных очагах размножения". К ним отнесены: количество и сроки выпадения осадков, динамика температурных перепадов, состояние травостоев и т.д. В то же время автор выделяет характерную для стадных саранчовых закономерность: пики массовых размножений приходятся на годы низкой активности солнца, но при этом, в связи с глобальным потеплением, очень вероятно "сокращение периодов депрессий между вспышками".

Фитосанитарная ситуация, сложившаяся на Ставрополье, требует профессионального рассмотрения, т.к. сообщество традиционно обитавших стадных видов - итальянского пруса и азиатской перелетной саранчи (*Locusta migratoria migratoria* L.) непредвиденно пополнилось весьма агрессивной мароккской саранчой (*Dociostaurus maroccanus* Thnb.). В 2012 г. ими было охвачено 460 тыс. га, что весьма осложнило фитосанитарную обстановку,

создало трансграничную опасность и потребовало повышенных материальных затрат и организационных усилий.

В связи с этим нами проанализированы многолетние данные краевой службы защиты растений об особенностях развития, распространения, динамике формирования и территориальной привязки видовых ареалов, вредности стадных саранчовых и объемах их химического контроля. Первым проявил себя итальянский прус в 1993 г. в 12-ти районах края на 249.1 тыс. га с плотностью до 150 экз./м<sup>2</sup> (табл. 1). В отдельных очагах тогда численность личинок не поддавалась подсчету. Стремительное расширение ареала не находило объяснения, так как в предыдущие 30 лет развитие этого вида было малозаметным. Наиболее опасные очаги на 9 тыс. га были обработаны.

Масштабное расселение пруса в последующие годы потребовало организационной перестройки работы службы защиты растений. Были развернуты широкие обследования, причем не только посевов сельхозкультур, но и целинных, залежных угодий, неосвоенных площадей с польнно-злаковыми растительными формациями, пастбищ, обочин полей и лесополос. Проследили численное распределение пруса, особенности его передвижений и формирования кулиг, выявили места и сроки откладки кубышек, проанализировали изменения жизнеспособности яиц. Это позволило

получить информацию о географической привязке очагов в пределах края и на территориях сопредельных регионов, и что особенно важно, спрогнозировать нарастание опасности, повысить готовность службы оперативно контролировать ситуацию с саранчовыми в последующие годы. В 1994 г. заселенная площадь достигла 498 тыс. га, а в последующие 2

года наблюдалось ее сокращение. Затем вновь подъем в 2001 г. и уменьшение вплоть до 2013 г. с 347.2 до 84.7 тыс. га. Соответственно колебались объемы обработок инсектицидами. В 2001 г. прус охватил наибольшую площадь - 412.2 тыс. га в 23 из 26 районов края. За период с 1993 по 2001 гг. заселенная площадь возросла в 1.7 раза, обработанная - в 11 раз.

Таблица 1. Динамика распространения стадных саранчовых и объемов проведенных истребительных мероприятий в Ставропольском крае

Годы	Итальянский прус				Азиатская перелетная саранча			
	Заселено тыс. га	Численность, экз./м <sup>2</sup>		Обработано тыс. га	Заселено тыс. га	Численность, экз./м <sup>2</sup>		Обработано тыс. га
		Средняя	Максимальная			Средняя	Максимальная	
1993	249.1	12.5	150	9.0				
1994	498.0	8.9	50	30.3				
1995	170.4	7.25	70	14.67				
1996	210.5	28.5	240	36.2				
1997	296.31	38.0	2000	41.29				
1998	362.3	56.8	2000	68.8				
1999	345.0	56.2	2000	59.8	2.55	14.0	31.0	2.7
2000	372.2	38.9	600	86.9	2.55	14.0	40.0	2.6
2001	412.2	30.4	2000	97.83	3.72	76.0	1200.0	4.32
2002	347.16	27.2	800	85.45	20.1	33.1	1000.0	7.4
2003	282.71	25.3	240	87.5	0.8	10.0	28.0	0.7
2004	290.3	17.5	180	81.8	0.1	0.1	0.2	-
2005	198.2	16.1	100	83.2	0.5	0.2	0.3	-
2006	134.3	5.06	500	7.53	2.07	0.1	0.5	-
2007	107.26	10.6	95	23.06	0.27	8.54	22.0	-
2008	152.7	17.0	320	46.18	0.01	0.5	72.0	-
2009	153.64	19.0	600	57.32	0.86	132.0	450.0	0.8
2010	112.15	11.3	500	48.39	1.57	4.8	202.0	4.7
2011	159.0	14.2	310	74.5	8.83	10.4	500.0	23.3
2012	109.0	20.0	1500	64.2	83.3	35.0	2500.0	74.0
2013	84.7	17.0	320	34.67	63.44	18.0	170.0	44.09

Результаты мониторинга позволяют судить о локализации очагов в пределах хозяйств и районов. В 2002-2005 гг. истребительные меры в крае сохранялись на достаточно высоком уровне - 81.8-87.5 тыс. га. Лишь в последующие 2006-2007 гг. произошел их спад, а затем в 2008-2012 гг. - стабилизация в пределах 46.2-74.5 тыс. га. Сегодня итальянский прус распространен в степях Ленокумского (вдоль Зарматинской балки, Кумо-Манычского канала, по пойме реки Кумы), Арзгирского (по пойме реки Чограйки и вдоль Чограйского водохранилища), Апанасенковского (на отгонных пастбищах урочища Хут-Хур, в пойме реки Маныч), Туркменского (вдоль Чограй-

ского водохранилища), Буденновского (по пойме реки Кумы), Ипатовского (в хозяйствах, соседствующих с Калмыкией), Петровского (на горе Куцай у Соленого озера по пойме реки Калаус), а также в некоторых хозяйствах Степновского и Нефтекумского районов. Заселил он и пойменные участки в Курском, Советском, Новоселицком, Благодарненском районах.

Перелетная азиатская саранча впервые обнаружена в 1999 г. в поймах рек Кумы и Мокрая Буйвола Буденновского района на 2.6 тыс. га вследствие залета из соседних республик. В последующие годы в приграничных с Калмыкией и Дагестаном плавнях формировались ее



постоянные очаги, которые постепенно расширялись, охватывая пойменные луга Курского, Левокумского, Изобильненского районов. Объемы проводимых обработок с 1999 по 2003 гг. составляли 0.7-7.4 тыс. га, в последующие 7 лет они отменялись из-за малой площади заселения, либо ограничивались (в 2009, 2010 гг.) площадью 0.8 и 3.9 тыс. га.

В 2011 г. ее ареал расширился за счет Красногвардейского, Новоалександровского, Труновского районов, а в 2012 г. размножение приобрело "взрывной" характер. Заселение до 83.3 тыс. га вывело этого вредителя на уровень доминантного итальянского пруса. В 2011-2013 гг. суммарный ареал двух видов саранчовых составлял 148.2-192.3 тыс. га, а максимальная численность достигла 310-1500 экз./м<sup>2</sup> первого и 170-2500 - второго, что серьезно увеличило уровень опасности.

В крае традиционными признаны первичные (природные) очаги азиатской перелетной саранчи в плавнях и по берегам водоемов приграничных с Калмыкией и Дагестаном районов (Курский, Левокумский). При благоприятном водном режиме периодически активизируются крупные очаги в Левокумском районе на пойменных лугах и плавнях в СПК "Овцевод", в поймах рек Кумы и Мокрой Буйволы в Буденновском районе, а также закрытом очаге вблизи озера Птичьего в Изобильненском районе.

Особенностью биологического развития данного вида является растянутость отрождения личинок. По мере снижения уровня воды в первичных очагах и обмеления берегов оно ускоряется. Поэтому появление личинок, лет имаго и откладка кубышек прослеживаются в крае до октября. С понижением температуры, особенно в ночное время суток, наступает естественное отмирание насекомых. Обычно вредитель развивается в одном поколении. В 2012 г. нами зарегистрирован редкий случай фенологической аномалии у азиатской саранчи: в 1 декаде августа на территории СПК "Россия" Арзгирского района на стерне (после уборки озимой пшеницы) было отмечено отрождение личинок второго поколения. Такие случаи известны, но повторяются с периодичностью в 100 лет.

Мароккская саранча еще в 1912 г. была

признана самым опасным вредителем возделываемых культур, что послужило причиной создания на Северном Кавказе ставропольского энтомологического бюро - прообраза будущей станции защиты растений. В 1912 году сотрудники развернули активную борьбу, используя препарат швейнфуртская зелень, что позволило полностью уничтожить вредителя. Распашка неудобий, освоение целинных участков оказали отрицательное влияние на мароккскую саранчу, численность ее стала уменьшаться, и до недавнего времени обнаруживались лишь одиночные особи. Символично, что именно в 2012 г. краевая служба, привыкшая держать ситуацию с саранчовыми под постоянным контролем, через 100 лет вновь столкнулась с масштабностью массового ее размножения (Стамо и др., 2013).

Предпочитаемые условия обитания этого вида достаточно полно описаны (Уваров, 1927; Бей-Биенко, 1937). В условиях повышенной всеохватности территорий, произошедшее в 2012 г. при обследованиях мы выявляли весьма высокую численность на целинных землях степей, используемых под выпас скота, предгорьях с сухими каменистыми почвами и холмистых степных участках. Личинки и имаго оказались способными наносить вред всем возделываемым культурам, а также лесным и декоративным древесно-кустарниковым породам, ползающим насаждениям. Насекомые объедают листья растений, у злаковых подгрызают колосья и выедают незрелые зерна; у винограда и плодовых деревьев повреждают еще и кору. Имаго часто перегрызают основания стеблей, что вызывает полегание растений. Из дикорастущих предпочтение отдается злаковым, осоковым, бобовым, маковым и крестоцветным.

Изучением закономерностей развития и распространения стадных саранчовых в крае и на всем Юге России в 2000-х гг. занимался М.В.Столяров. По разработанной им методике были заложены стационарные участки в четырех районах, где проводился многолетний мониторинг. При совместных обследованиях в 2006 г. впервые были выявлены единичные особи мароккской саранчи в Левокумском (КСХП "Урожайное"), Арзгирском (СПК колхоз имени Ленина, пойма реки Чограйки в 4

км от места впадения в Маныч) и Туркменском (СПК "Владимировский") районах. 2011 год отмечен значительным подъемом численности всех видов саранчовых. Мароккская наиболее активно распространилась, перейдя из одиночной фазы (*phasis solitaria*) в стадную (*phasis gregaria*), при интенсивном ее размножении возникали предпосылки преобладания среди стадных видов.

В связи с этим проведено картирование очагов повышенной плотности по видам саранчовых, мониторинг зимующего их запаса по кубышкам (стационарные участки, маршрутные обследования), в том числе всех возможных мест откладки яиц. Из обследованных 225 тыс. га кубышки были выявлены на 200 тыс. га (89%), со средней численностью 1.8 экз./м<sup>2</sup> и максимальной - 17 экз./м<sup>2</sup>. Это позволило спрогнозировать увеличение численности и ареалы саранчовых в 2012 году, спланировать объем защитных мероприятий на 200 тыс. га.

Обширные весенние обследования и анализ жизнеспособности перезимовавшего запаса кубышек для уточнения объема возможных химических обработок показал, что суровая зима 2012 г. (температура воздуха снижалась до -36°C, почва промерзала на глубину до 50 см) существенно не повлияла на состояние зимующего запаса яиц саранчовых: их гибель в период зимовки составила всего лишь 12.9%.

Первое отрождение мароккской саранчи было зарегистрировано 12 апреля в Левокумском районе. Наибольшую численность имела мароккская саранча, прежде всего в восточных районах, граничащих с Республикой Калмыкия (Левокумский, Арзгирский) и с Республикой Дагестан (Нефтекумский). Опасность вида проявилась и в способности личинок стремительно формировать большие кулиги, начиная с 1-го возраста, размером в несколько тысяч гектаров. Плотность вредителя в кулигах достигала 500-1000 экз./м<sup>2</sup>. К моменту перехода личинок во 2-й возраст кулиги занимали еще большую площадь, а с третьего возраста их размер расширялся в 2-3 раза, охватывая территорию по фронту до 10 км. В 2012 г., вытеснив итальянского пруса, этот вредитель занял прочное доминирующее

положение. В видовом составе стадных саранчовых на долю мароккской саранчи приходилось 58%, итальянского пруса - 24%, азиатской саранчи - 18%.

Дружное отрождение огромного количества личинок мароккской саранчи в совокупности со скудной кормовой базой пастбищ в восточных районах ускорило скулиживание и миграцию вредителя в сторону более привлекательных посевов сельскохозяйственных культур. Было замечено, что движение кулиг мароккской саранчи отклонялось от традиционных направлений, описанных в литературе, то есть не с юга на север, а наоборот - с севера на юг широким фронтом, причем плотность личинок внутри сформированных кулиг менялась и имела полосную, вытянутую по длине кулиги зональность. Препятствия в виде холмов вредитель обходил, водоемы преодолевал вплавь. Еще одной необычной особенностью мароккской саранчи было то, что ее личинки буквально облепляли заборы, стены жилых домов, забираясь до самой крыши, и в огромных количествах скапливались в различных углублениях (ямах, канавах и т.д.). Такая поведенческая реакция больше характерна для кузнечиковых и совершенно несвойственна стадным видам.

В 2011 г. наблюдалась определенная последовательность в отрождении и развитии саранчовых: сначала появлялась мароккская саранча, затем в интервале 15-20 дней - итальянский прус, а спустя еще 5-10 дней - азиатская саранча. Эти интервалы изменялись в зависимости от мест концентрации. В стабильных (традиционных) очагах отрождение происходило раньше, в окружении полей с посевами сельхозкультур или на стыке виноградных и плодовых посадок - позже. Эти временные "окна" позволяли выстраивать систему борьбы в определенной последовательности, своевременно вносить коррективы в выбор инсектицида и рационально распределять рабочую загрузку наземной техники, либо своевременно привлекать авиацию. Эти же "окна" давали возможность провести обработку в наиболее уязвимые для вредителей сроки (по младших возрастам).

В 2012 г. сложилась совершенно иная си-

туация: размножение трех доминирующих видов саранчи происходило изначально с опережением календарных сроков на 20-25 дней, носило "взрывной" характер. Первоначально регистрировали различия в сроках отрождения и формирования очагов по группам районов. Так, появление личинок первых возрастов всех доминантных видов в Арзгирском, Нефтекумском, Буденновском районах произошло 20-25 апреля, а в Апанасенковском, Грачевском, Новоалександровском, Благодарненском, Изобильненском районах - 2-8 мая. В пределах каждой из названных групп районов переход из одного возраста в последующие происходил синхронно с повышенной интенсивностью. Если принять во внимание, что в первой было заселено 90 тыс. га, а во второй - 250 тыс., то становится понятным, что охватить под обработку всю заселенную площадь в наиболее уязвимой фазе, то есть по младшим возрастам, не представлялось возможным. Поэтому часть популяций получила опережающее развитие, причем активно мигрирующие кулиги разных видов и возрастов саранчовых в определенные периоды смешивались. Фактически на громадных территориях интенсивно формировались скопления насекомых с разновозрастной и разновидовой структурой. Так, в Арзгирском, Левокумском, Нефтекумском районах выявлены кулиги, в которых присутствовала смесь личинок 2-5-го возрастов итальянского пруса и мароккской саранчи. Их численность не поддавалась учету и была обозначена цифрами 2000-2500 особей на 1 м<sup>2</sup>. Такая неоднородность в развитии и плотности сообщества саранчовых зарегистрирована впервые. Нередкими были ситуации, когда обработанные площади подвергались быстрому повторному заселению, что влекло за собой 2-3-кратное применение инсектицидов.

Активность саранчовых с достаточно высокой плотностью (220-480 шт./м<sup>2</sup>) проявлялась не только в местах их традиционного обитания, но и на неосвоенных участках среди плодовых насаждений и виноградников, прилегающих к лесополосам и обочинам полей, выведенных из культурооборота. Если же принять во внимание и возросшую активность кобылок, то становится понятным масштаб сложившейся угрозы. В этих услови-

ях традиционная ориентация на сроки отрождения итальянского пруса, как это было ранее при принятии решения о начале проведения обработок, оказалась неверной. Потребовалось срочно провести испытания ряда поставляемых инсектицидов, выбрать из них наиболее эффективные, определиться с нормой их расхода, чтобы обеспечить максимальное воздействие не только на личинок младших, но и средних и старших возрастов, обладающих меньшей уязвимостью и большей способностью к миграции. К такой работе нас обязывали и ранее установленные факты формирования 54-223-кратной резистентности к длительно применяемым препаратам в популяциях итальянского пруса (Коваленков, Тюрина, 2002). Результаты опытов, представленные в таблице 2, подтвердили наши опасения: препараты из группы токсикантов лямбда-цигалотрина, альфа-циперметрина, зета-циперметрина, фенитратиона не сдерживали развитие вредителей на безопасном уровне, хотя 10 лет назад они обеспечивали достаточно высокую эффективность (Долженко, 2003).

Таблица 2. Биологическая эффективность инсектицидов в борьбе с саранчевыми через трое суток после обработки (2012)

Варианты	Расход препарата, л/га	Биологическая эффективность по возрастам, %		
		I	II	III
<u>Итальянский прус</u>				
Имидаклоприд	0.075	79.8	61.1	49.0
	0.10	89.5	77.0	60.7
	0.12	95.5	81.3	63.3
Лямбда-цигалотрин	0.15	59.3	44.2	21.9
Зета-циперметрин*	0.1	46.6	21.7	14.3
<u>Мароккская саранча</u>				
Имидаклоприд	0.075	79.5	48.8	45.8
	0.12	92.5	72.1	53.3
Лямбда-цигалотрин	0.15	60.3	40.0	22.4
Альфа-циперметрин	0.30	54.4	30.9	13.6
Фенитратион	1.2	49.6	26.4	17.1
	1.8	53.6	29.9	28.2
Зета-циперметрин*	0.1	42.3	34.2	24.8
<u>Перелетная азиатская саранча</u>				
Имидаклоприд	0.075	76.5	55.2	42.2
	0.12	93.2	70.0	53.5
Лямбда-цигалотрин	0.15	60.5	51.2	42.5
Альфа-циперметрин	0.30	53.5	41.0	34.5
Фенитратион	1.8	50.2	32.5	26.5
Зета-циперметрин*	0.1	49.0	36.2	18.5

\*Эталон.

Полученные в полевых опытах данные легли в основу решения о выборе и закупке на бюджетные средства препарата танрек (д.в. имидаклоприд). Его цена и эффективность в сравнении с другими препаратами оказались более приемлемыми. Однако стремительное формирование разновозрастных смешанных популяций саранчовых потребовало увеличения норм расхода инсектицида. Более результативными оказались обработки при расходе 0.1-0.12 л/га: не только повышались показатели смертности, но и пролонгировался срок токсического действия до 8-12 дней (против 2-3-х дней при применении пиретроидных препаратов), и что важно - на 43-60% снижалась численность личинок 4-5-го возрастов. Конечно, соотношения разновозрастных особей в разновидовых популяциях по районам и урочищам различались и динамично изменялись. Соответственно варьировали показатели смертности. Во всех случаях присутствие в кулигах большего количества личинок младших возрастов приводило к более высокому результату обработки.

Вспышка размножения азиатской перелетной саранчи побудила нас к анализу и ее чувствительности к инсектицидам. Еще в 2003 г. была изучена токсичность 13-ти препаратов из 4-х химических классов (Коваленков, Тюрина, 2004). Тогда наибольшую эффективность имели децис экстра, каратэ, фьюри, кинмикс. Производственные концентрации этих препаратов оказались токсичными и для личинок старших возрастов. Достаточно высокие индексы токсичности (ИТ) их (на уровне 161.5-54.9) позволяли прогнозировать сохранение этих показателей на ближайшие годы. Однако в 2012 г. уже проявился спад ИТ до 30.2-14.1, хотя этот уровень позволял получать достаточную эффективность против личинок 1-2 возрастов (89-96%). В отношении более старших возрастов вышеназванные препараты оказывали вдвое меньшее влияние на вредителя. Выраженно высокую токсичность показали моспилан и регент (погибало 94-98%). Танрек в увеличенной норме расхода и смешанные комбинации пиретроидных и фосфорорганических препаратов позволяли снижать численность вредителя на 92-94%.

Признаем, что своевременно принятые

масштабные меры контроля не позволили повсеместно приостановить развитие мароккской саранчи. В конце мая она во многих очагах продолжала сохраняться. В это же время началось массовое отрождение личинок азиатской саранчи, что серьезно усложнило фитосанитарную ситуацию и повысило угрозу сохранности урожая. Чтобы не допустить потерь, впервые в трех восточных, наиболее заселенных районах края - Левокумском, Нефтекумском и Арзгирском - был введен режим "чрезвычайной ситуации", потребовавший наибольшей мобилизации всех сил и средств в крае.

В условиях жаркого и сухого сезона 2012 г. прожорливость саранчи оказалась повышенной и в значительной мере определялась недостатком влаги. Поэтому из засушливых степей Нефтекумского района со скудной растительностью (полынь, горчак, солянки и др.) личинки стремительно скулиживались и мигрировали в места с более благоприятными условиями. К посевам саранчу не подпускали благодаря заградительным обработкам, тем не менее часть их стаи сохранялась и мигрировала на близлежащие территории, в том числе на пастбища соседнего Левокумского района, где 23-24 мая прошли дожди). Опытным путем зафиксировали: при нехватке пищи кулиги саранчи за сутки перемещаются на расстояние 150-200 м и за всю личиночную стадию могут мигрировать от места отрождения на 3-4 км.

Ареал мароккской саранчи территориально охватил всю полосу Нефтекумского района, граничащую с Дагестаном, а в Левокумском районе - приграничную с Калмыкией полосу.

Из-за сходного ландшафта и однотипных сухостепных стадий с преобладанием полыни и мятлика луковичного на приграничных территориях Дагестана и Калмыкии с апреля также отмечалась заселение и высокая плотность мароккской саранчи, происходила миграция кулиг в обоих направлениях, что потребовало оперативного взаимодействия со специалистами этих республик.

Всего обследования на выявление личинок саранчовых в 2012 г. в крае были проведены на 1 млн 113 тыс. га. Заселение стадными видами выявлено на 460 тыс. га, в том числе мароккской саранчой - на 267.8 тыс. га, итальян-

ским прусом - на 109 тыс. га, перелетной азиатской саранчой - на 83.3 тыс. га. Истребительные мероприятия проведены на 394.5 тыс. га. Кроме того, в июле на 11.6 тыс. га в крае было зарегистрировано сохранение имаго азиатской перелетной саранчи, что потребовало провести дополнительную обработку. Всего против саранчовых обработано 406.1 тыс. га.

После вспышки размножения трех стадных видов саранчовых в 2012 г. важно было проследить фенологию и динамику формирования ареалов и численности в 2013 г. Начало отрождения мароккской саранчи и итальянского пруса в районах края отмечено 8-15 мая, азиатской перелетной саранчи - 10-15 мая, массовое появление 1-го возраста личинок всех трех видов - 13-20 мая. Синхронный переход из одного возраста в последующие не позволял одновременно охватить обработкой инсектицидами всю заселенную саранчовыми площадь в наиболее уязвимой их фазе. Поэтому часть популяций получала возможность для опережающего развития и интенсивного формирования скоплений насекомых с разновозрастной и разновидовой структурой, что обусловило заметные различия в показателях эффективности примененных инсектицидов. Примененные средства борьбы вызвали крайне низкую смертность: 38-46% от пиретроидных препаратов и 42-58% - фосфорорганических. Поэтому несмотря на интенсивные обработки, часть вредителей к 21 июня на площади 21.6 тыс. га допиталась до имаго. Лучшие результаты при опытном применении показали матч КЭ (50 г/л), димелин СП (250 г/кг), адонис КЭ (40 г/л), танрек ВРК (200 г/л) - 79-96%. Последний в практике борьбы по краю преобладал. Наиболее эффективен был танрек в повышенной норме 0.1-0.12, в то время как препараты пиретроидного и фосфорорганического классов проявили пониженную токсичность, что свидетельствует о сформированной к ним резистентности; наибольшая уязвимость характерна для личинок первого возраста, по мере повышения их возраста чувствительность к инсектицидам снижается (табл. 3).

В 2013 г. общая площадь заселения стадными видами саранчовых в крае составила 345.9 тыс. га, в т.ч.: итальянским прусом - 84.7

тыс., мароккской саранчой - 54.1 тыс., азиатской перелетной саранчой - 63.4 тыс. с численностью первой - 2-27 экз./м<sup>2</sup>, второй - 6-100 экз. и третьей - 18-170. Таким образом, итальянский прус по ареалу вновь занял доминирующее положение. Обработка проведена на площади 125.3 тыс. га, в т.ч. против итальянского пруса на 34.7 тыс. га, мароккской саранчи - на 46.5 тыс. и азиатской перелетной саранчи - 44.1 тыс. га. Фитосанитарная ситуация оказалась менее напряженной по сравнению с 2012 г., тем не менее создавала во многих районах реальную угрозу возделываемым культурам, на значительной площади зарегистрировано формирование кубышек, что не исключает подъема численности саранчи в 2014 году.

Возросшее значение саранчовых обусловило необходимость более точного прогнозирования не только возможной интенсивности их развития и расселения, но и объемов обработок. Важность таких показателей для практики объясняется потребностью сформировать определенный запас инсектицидов и организовать заблаговременную доставку их к очагам размножения, избирательно по районам. В этой связи в 2010-2013 гг. на 19 стационарных участках закладывались опыты по определению жизнеспособности и численности ушедшего в зимовку итальянского пруса и обоснованию объемов обработок в следующем году. Полученные показатели позволили планировать истребительные обработки, руководствуясь следующими критериями:

- при обнаружении 1-2 зимующих кубышек на 1 м<sup>2</sup> предусматривать под обработку 100% заселенной площади,
- при плотности 3-4 кубышки/м<sup>2</sup> потребуется 1.2 обработки,
- при плотности 5-6 кубышек/м<sup>2</sup> потребуется 1.5 обработки.

В приведенных данных учтена происходящая (как правило) растянутость во времени отрождаемости личинок. При повышенной плотности кубышек их отрождение может растягиваться до 13 дней. В этом случае вслед за первой обработкой неизбежна через 5-7 дней повторная, хотя и не на всей учетной площади.

Изучение причин, условий и последствий

массового расселения саранчовых привело к заключению, что сформированная резистентность, как результат естественного отбора под жестким воздействием многолетнего и масштабного применения химических средств, накладывается на неоднородность природной среды. В итоге оба фактора в сумме стали определять специфичность образования очагов пруса, его плотность и жизнеспособность (Коваленков, Кузнецова, 2011). На Ставрополье нами зарегистрированы три стойких сообщества саранчовых с преобладанием итальянского пруса, различающихся реакцией на инсектициды. Первое - обитает в местах масового скопления в вышеуказанных урочищах, сформировало высокую резистентность к инсектицидам. После двукратной обработки здесь выживает 21-38% популяции пруса, которые не только создают локальную основу будущей опасности, но и формируют трансграничную угрозу. Второе - это сообщество с высокочувствительной к инсектицидам популяцией, выявленной в Предгорном районе на 1206 га (неосвоенные участки, окруженные пашней). Примером аналогичного сообщества может служить изолированный очаг пруса с высокой чувствительностью к инсектицидам, сформировавшийся на многолетних посевах эспарцета (100 га, ЗАО СХП "Русь" Буденновского района), удаленных от основных массивов сельскохозяйственных культур и замкнутых со всех сторон крутыми склонами холмистого рельефа.

Промежуточное положение занимает выявленное в ООО "Вина Прикумья" Буденновского района сообщество, сформированное на стыке виноградных посадок, плодового сада и прилегающих к ним залежных участков. Здесь прус, составляя 96% от всех видов, попадает под обработки, проводимые против вредителей винограда и сада, приобрел небольшую резистентность на 5.1-14.2-кратном уровне. Выживающие после таких обработок 23-32% популяции позволяют вредителю уже многие годы сохраняться в пределах этого очага.

Территориальная дифференциация во взаимосвязи с разноуровневой резистентностью пруса к инсектицидам обуславливает необходимость в каждом конкретном месте подбирать свой наиболее эффективный ассортимент

защитных средств. При этом обязательно чередование препаратов с различными химической основой и механизмом действия.

При обследовании мест откладки кубышек саранчовыми нами с 1995 г. прослеживались скопления и передвижения энтомофага шпанки красноголовой (*Epicauta erythrocephala* Pall.). Она образует подвижные стаи на сорной растительности залежных участков с численностью от 57 до 380 особей/м<sup>2</sup>. Ареал и численность энтомофага увеличиваются синхронно с изменением по годам численности саранчовых. В 2010 г. в 132 очагах 14 районов края нами зарегистрировано поражение 27-100% яиц в кубышках пруса личинками энтомофага. В 2013 г. в 79 очагах 8 районов мы также отметили регулируемую роль шпанки на уровне 34-82%. Замечено, что шпанка красноголовая появляется в большом количестве в годы, следующие за периодом массового размножения саранчовых. В отдельные годы энтомофаг способен сдерживать плотность пруса на безопасном для сельскохозяйственных культур уровне, как это было на 100 га посевов люцерны в ООО "Агро-Смета" Георгиевского района.

Оценивая эффективность проводимых обработок инсектицидами, мы еще в 2005 г. выявили весьма слабую токсичность их для шпанки (Коваленков, Тюрина, 2005). Оказалось, что на фоне активной борьбы с прусом происходило снижение чувствительности не только у вредителей, но и у шпанки к препаратам двух химических групп - пиретроидной и фосфорорганической. Результаты проведенных в 2010 г. анализов подтверждают эту закономерность (табл. 3).

Таблица 3. Токсичность инсектицидов для имаго шпанки красноголовой в Буденновском районе Ставропольского края

Токсиканты	СК <sub>50</sub> (% д.в.)	СК <sub>95</sub> (% д.в.)	ИТ	Биол. эффект, %
Лямбда-цигалотрин	0.0032	0.0108	0.6	85
Дельтаметрин	0.0084	0.03	0.1	11
Альфа-циперметрин	0.0070	0.025	0.4	58
Зета-циперметрин	0.0049	0.016	0.2	21
Диметоат	0.088	0.3	0.9	94
Фенитропион	0.057	0.21	1.4	100
Фипронил	0.012	0.057	0.1	30

Как видно из таблицы, все испытанные препараты (кроме фенитропиона) имеют от-

рицательные индексы токсичности (ИТ), то есть рекомендованные против саранчовых вредителей максимальные концентрации производственных растворов губительны лишь для части популяции шпанки благодаря формированию в ее популяциях резистентности.

Наиболее токсичны фосфорорганические препараты - ИТ 0.9-1.4, они теоретически способны истребить 94-100% энтомофага. Однако в производственных условиях их токсичность ослабляется действием ряда природных (перепады температуры, влажности, инсоляция) и технологических (несоблюдение норм расхода препарата, рабочей жидкости, обработка в жаркие часы дня) факторов. На этом фоне действие инсектицида ослабляется не только в отношении вредителя, но и шпанки, 68-86% которой выживает и способно предупреждать нарастание плотности пруса до опасного для растений уровня. Это позволяло частично отменять химические обработки в 2010 г. на 6120 га, в 2013 г. - на 9740 га. Полученные нами показатели токсичности инсектицидов для итальянского пруса, азиатской саранчи и шпанки приняты за видовые характеристики, от которых ведется отчет показателей их резистентности. Данные по саранчовым вклю-

чены в изданные в ВИЗР методические рекомендации "Мониторинг резистентности к пестицидам в популяциях вредных членистоногих" (2013 г.), азиатской саранчой - на 83.3 тыс. га.

В заключение отметим, что сложившаяся фитосанитарная ситуация на Ставрополье показала, насколько опасны достоверно не прогнозируемые и трудно контролируемые стадные саранчовые. Их способность стремительно охватывать значительные территории, формировать разновозрастные и разновидовые популяции с разноуровневой резистентностью к инсектицидам серьезно усложняет решение задачи по защите растений. Поэтому несмотря на интенсивно проводимые химические обработки, ежегодно сохраняется, накапливается и переходит из года в год значительный их запас. Что особенно тревожно - этот процесс приобрел трансграничное значение. Новые фитосанитарные осложнения требуют целевой государственной поддержки и финансирования научно-исследовательских работ, включая мониторинг, прогноз, подбор эффективных средств борьбы, а также скоординированного взаимодействия специалистов всех субъектов России.

#### Литература

- Бей-Биенко Г.Я. Саранчовые // Наескомые, вредящие полевым культурам. М. - Л., 1937, 538 с.
- Долженко В.И. Вредные саранчовые (Биология, средства и технология борьбы). СПб, 2003, 316 с.
- Коваленков В.Г., Тюрина Н.М. Изучение чувствительности итальянского пруса (*Calliptamus italicus* L.) к инсектицидам // Агрохимия, 2002, 6, с.76-81.
- Коваленков В.Г., Тюрина Н.М. Характер изменения чувствительности азиатской перелетной саранчи (*Locusta migratoria* L.) к инсектицидам // Матер. научно-практич. конф. Биологическая защита растений - основа стабилизации агроэкосистем. Краснодар, 2004, с. 306-309.
- Коваленков В.Г., Тюрина Н.М. Чувствительность шпанки красноглазой к инсектицидам // Защита и карантин растений, 2005, 12, с. 24-25.
- Коваленков В.Г., Кузнецова О.В. Как сдерживать рас-

пространение итальянского пруса // Защита и карантин растений, 2011, 9, с. 14-17.

Предтеченский С.А., Жданов С.П., Попова А.А. Вредные саранчовые в СССР (обзор за 1925-33 гг.) // Труды по защите растений. Энтомология. Л.-М., 1935, вып.18, 166 с.

Столяров М.В. Цикличность и некоторые особенности массовых размножений итальянского пруса (*Calliptamus italicus* L.) на юге России // Экология, 2000, 1, с. 48-53.

Стамо П.Д., Коваленков В.Г., Кузнецова О.В., Никитенко Ю.В. Мароккская саранча снова на Ставрополье // Защита и карантин растений, 2013, 2, с.14-20.

Уваров Б.П. Саранчовые Средней Азии. Ташкент, Изд. УзбСТАЗР, 1927, 214 с.

Цыпленков Е.П. Вредные саранчовые насекомые в СССР. Л., Колос, 1970. 271 с.

## PRESENT PHYTOSANITARY SITUATION WITH GREGARIOUS LOCUSTS IN STAVROPOL TERRITORY

V.Kovalenkov, O.Kuznetsova, N.Tyurina, Yu.Nikitenko

Peculiarities of development, formation of species areas and numbers of gregarious locusts have been described based on the analysis of literature, materials of the Stavropol branch of Russian Agri-cultural Centre and own research, regarding the Italian, Migratory and Moroccan locusts. Their phenology, spatial distribution and migration dynamics are shown. It has been found that up to 2600 in-

dividuals/m<sup>2</sup> accumulate on vast area, having different age and species structure and forming resistance to applied insecticides. The entomophage *Epicauta erythrocephala* activity allows canceling chemical treatments. The integrated monitoring is recognized as important in the new phytosanitary conditions.

Keywords: *gregarious locusts, monitoring, phenology, development, species area, resistance, chemical control, Epicauta erythrocephala, entomophage.*

В.Г.Коваленков, д.с.-х.н., vniibzr@mail.kuban.ru  
О.В.Кузнецова, зам. руководителя, rsc26@mail.ru  
Н.М.Тюрина, научн. сотр.  
Ю.В.Никитенко, к.б.н.



УДК 72.02-035.3:632.952(470.23)

## МИКОБИОТА ДРЕВЕСИНЫ ИСТОРИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ АРХИТЕКТУРЫ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОНТРОЛЯ С ПОМОЩЬЮ ФУНГИЦИДОВ

Т.А. Серова, Ю.А. Титова

*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург*

С использованием классических и молекулярно-генетических методов определены доминирующие виды микро- и макромицетов в микосинузиях деревянных подвальных, этажных и стропильных конструкций семи исторических зданий, использованных в качестве тест-объектов при оценке фунгистатического и фунгицидного действий химических препаратов фирмы Remmers (Германия). Выявлены и подтверждены для всех тест-объектов достоверные фунгистатический и фунгицидный эффекты исследованных концентраций препаратов Adolit M flüssig и Impragnierung BFA. Фунгицидное действие химического препарата преодолевалось мицелием в динамике его роста на тест-объектах и было пропорционально его концентрации. Определена возможность использования исследованных фунгицидов на поверхности материалов для профилактики развития микобиоты.

*Ключевые слова:* микобиота древесины, биодеструкция древесины, биоконверсия древесины, лигнофильные макромицеты, фунгистатическая активность, фунгицидное действие.

Проблемы консервации и реставрации от биоповреждений исторических и культурных памятников для Санкт-Петербурга особенно актуальны (Серова и др., 2013). Биоповреждения одной из групп историко-культурных ценностей - памятников архитектуры - имеют характер биодеструкции различных их частей. Наибольшую значимость в этой связи приобретает биоконверсия древесины, которая благодаря своей универсальности всегда использовалась во всех частях зданий, от подвальных помещений до стропильных систем (Серов и др., 2004; Рядова и др., 2004; Андронов и др., 2007; Титова и др., 2013). Поскольку древесина содержит высокомолекулярные комплексы полисахаридов - лигнина и целлюлозы, обеспечивающие ее уникальные механические свойства, она чаще всего и активнее подвергается в зданиях и сооружениях биодеструкции микроорганизмами (Беломесяцева, 2004; Воронин, 2007; Семенова, 2008). В деле консервации и реставрации этот факт относят к основным недостаткам деревянных конструкций и сооружений в целом, так как при биоконверсии последних во времени никакие реставрационные мероприятия неэффективны и исторические памятники могут быть полностью утрачены (Синица и др., 1995; Schmidt, 2007; Titova, 2007). Процесс биоконверсии полисахаридов осуществляется, в основном, грибами, бактерии принимают в нем очень ограниченное участие на начальных стадиях биодеструкции

целлюлозы (Трапина, 1968; Свиридова и др., 2001; Смоляницкая, 2007). Микромицеты-биодеструкторы, разрушая в основном целлюлозу, способны конвертировать древесину, отщепляя олигомеры от биополимеров, усваивая компоненты различных ароматических соединений, входящих в состав лигнина, таким образом обеспечивая себя и другие микроорганизмы трофической базой для развития (Беккер, 1963; Nilsson, 1974; Schwanninger et al., 2002). Кроме того, разрушая при биоконверсии мембраны окаймленных пор, клетки лучевой паренхимы и стенки трахеид с образованием в них очень тонких продольных каналов, микромицеты способны значительно повышать гигроскопичность древесины, обеспечивая возможность ее биоконверсии лигнофильными макромицетами (Вакин и др., 1968). Наиболее активные конвертеры древесины - ксилотрофные базидиомицеты, способные разлагать труднодоступные полисахариды этого строительного материала, вплоть до полной минерализации (Бисько и др. 1986; Золотарев и др., 1990; Бабицкая и др., 1994; Синица и др., 1995; Змитрович и др., 2007).

Таким образом, для разработки эффективных мер борьбы с биоконверсией древесины конструкций необходимо знать, какие комплексы микро- и макромицетов развиваются на них и какие процессы происходят в субстрате при активном развитии грибов. Сведения о чувствительности доминирующих ми-

кодеструкторов к применяемым в современной реставрационной практике фунгицидам необходимы для составления наиболее точных рекомендаций по применению последних в реставрации деревянных конструктивных элементов. Исходя из вышесказанного цель исследования - выявить возможность контроля доминирующих микодеструкторов исторической древесины памятников архитектуры Санкт-Петербурга с помощью применяе-

мых в современной реставрации фунгицидов. Для достижения поставленной цели решали задачи по идентификации представителей микобиоты, осуществляющих биоконверсию деревянных конструкций семи исторических зданий Санкт-Петербурга; характеристике видового состава и доминант микосинузий, а также выявлению и характеристике фунгистатического и фунгицидного действия современных химических фунгицидов фирмы Remmers (Германия).

#### Методика исследований

Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ВИЗР и построенных в XVIII-XIX веках зданий Благовещенской церкви (1750-1758 гг.), Собора Святой Живоначальной Троицы Лейб-гвардии Измайловского полка (Троицкого собора, 1828-1835 гг.), Казанского собора (1801-1812 гг.), Китайского дворца комплекса "Ораниенбаум" (1762-1768 гг.), Каменноостровского Императорского театра (1827 г.), здания гостиницы на Садовой улице (1872-1874 гг.) и здания наркологического диспансера (1910 г.). В качестве объектов исследования использовали культуры доминирующих микодеструкторов исторической древесины вышеупомянутых памятников архитектуры Санкт-Петербурга, химические фунгициды фирмы Remmers (Германия) в половинной, рекомендованной и удвоенной концентрациях: Adolit M flussig (д.в. бензилалкилдиметил хлорид, натрийполиборат) - 16, 32 и 64 г/л и Impragnierung BFA (д.в. изотиазон) - 0,375, 0,75, 1,5 г/л раствора.

В работе применяли как классические, так, на некоторых объектах, и молекулярно-генетические методы выделения и идентификации грибов; качественного и количественного учета макро- и микромицетов, характера их развития (Методы..., 1982; Jasalavich et al., 2000; Hogberg et al., 2004, 2006; Смоляницкая, 2007; Andronov et al.,

2007; Nicolotti et al., 2009). Для лабораторных опытов *in vitro* использовали древесную полусинтетическую агаризованную (18 г/л агар-агара) среду собственной разработки на основе экстракта исторической древесины сосны обыкновенной: 200 г опилок растирали в ступке и замачивали холодной водой на 3 часа, затем 500 мл настоя вместе с опилками и с добавкой 15 г/л сахарозы варили в два приема (по 3 и 4 часа) с промежуточным и окончательным доведением до первоначального объема. Режим стерилизации 30 мин. при 0,5 атм вследствие содержания сахара в низкомолекулярной форме. Для подавления роста бактерий применяли стрептомицин-сульфат - 0,2 г/л. Для оценки фунгистатической активности препаратов применяли вышеописанную древесную среду с добавлением соответствующих их количеств, фунгицидной активности - помещенные на "газон" чистой культуры тест-объекта стерильные диски фильтровальной бумаги, смоченные в растворах соответствующих концентраций фунгицидов. Повторность 16-кратная. Фунгистатическое действие различных доз химических фунгицидов оценивали по показателю средней скорости роста мицелия тест-объекта путем ежедневного измерения линейного прироста колонии. Фунгицидное действие оценивали по размеру зоны подавления роста мицелия тест-объектов (Методы..., 1982).

#### Результаты исследований

В результате микологического анализа биоконвертированных образцов древесины стропильных конструкций Благовещенской церкви выявлено 24 вида микромицетов, Троицкого собора - 28 видов микромицетов, Казанского собора - 10 видов макро- и микромицетов, Китайского дворца - 25 видов макро-, микро- и миксомицетов, стропильных и этажных конструкций Императорского театра - 53 вида представителей микобиоты, здания гостиницы - 49 видов и здания диспансера - 99 видов макро- и микромицетов. В группе доминант микосинузий деревянных стропильных, этажных и подвальных конструкций всех исторических памятников архитектуры отмечены виды *Trichoderma* и *Fusarium* с максимальным пулом этих микромицетов в образцах древесины конструкций  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/г,

соответственно, свидетельствующим об их участии в биодеструкции древесины. Наибольшей плотностью популяции характеризовались виды *T. viride* и *F. oxysporum* - 2,3-38,4% и 1,2-76,1% соответственно. При биоконверсии древесины подвальных конструкций макромицетами доминировал с частотой встречаемости 22,3% и плотностью популяции 4,9% домовый гриб *Serpula lacrymans* (Wulfen) J.Schrot. Все вышеперечисленные макро- и микромицеты были введены в чистую культуру и использованы в качестве тест-объектов в оценке фунгистатического и фунгицидного действий химических препаратов фирмы Remmers (Германия), применяемых в современной реставрационной практике исторических памятников Санкт-Петербурга.

Достоверный, оцененный с помощью *t*-

критерия Стьюдента, фунгистатический эффект выявлен на питательных средах с добавлением всех концентраций препаратов Adolit M flüssig и Impragnierung BFA на *S. lacrymans*, *F. oxysporum* и *T. viride* (рис. 1). Вплоть до 14-х

суток опыта рост культур наблюдался лишь на остатках инокулюма, не переходя на среду, содержащую химический препарат, и в контроле без применения фунгицидов (рис. 1 а, в, д и рис. 2).

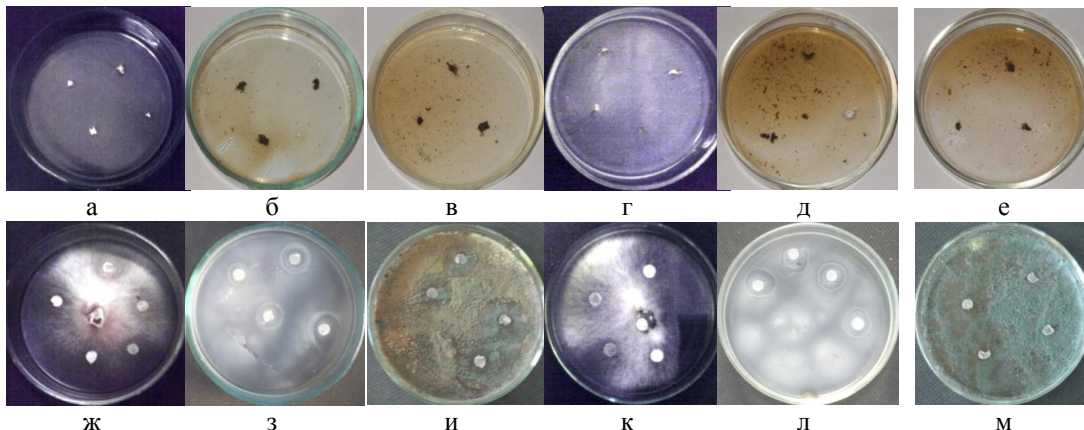


Рис. 1. Фунгистатическое (а-е) и фунгицидное (ж-м) действие препаратов в рекомендованных концентрациях Adolit M flüssig, 32 г/л (а-в, ж-и) и Impragnierung BFA, 0,75 г/л (г-е, к-м) на развитие: а, г, ж, к - *S. lacrymans*, б, д, з, л - *F. oxysporum*, в, е, и, м - *T. viride* (10-е сутки опыта)

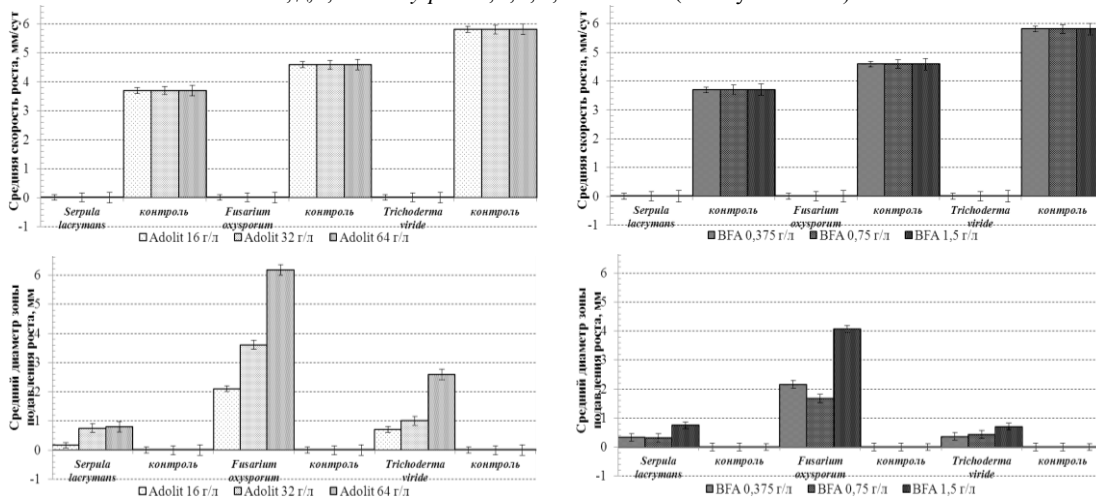


Рис. 2. Средние скорости роста (а, б) и средние диаметры зоны подавления роста мицелия тест-объектов (в, г) под воздействием различных концентраций препаратов Adolit M flüssig и Impragnierung BFA

Исходя из статистических данных для всех концентраций обоих препаратов на всех тест-объектах отмечали достоверный фунгицидный эффект (зона подавления роста 0.5-2 мм) с отрицательной динамикой (рис. 1, 2). То есть фунгицидное действие препаратов во времени достаточно быстро преодолевалось мицелием

тест-объектов. Быстрее всего фунгицидный эффект нивелировался мицелием *S. lacrymans* (7 суток), далее по убыванию зоны подавления роста *T. viride* (9 суток) и *F. oxysporum* (20 суток) (рис. 1). С увеличением концентрации фунгицидов зона подавления роста значительно увеличивалась (3-6 мм) и фунгицидный эф-

факт наблюдался в течение более длительного времени после завершения опыта (более 14 суток), особенно для микромицетов (рис. 2). Все зоны подавления роста *F. oxysporum* были сопоставимы для исследованных концентраций обоих препаратов и находились в пределах 2-6 мм радиального размера, не зарастая мицелием в течение всего периода наблюдений (рис. 2).

### Заключение

В результате проведенных исследований показано высокое видовое разнообразие микобиоты биоконвертированных образцов исторической древесины памятников архитектуры Санкт-Петербурга. Выявлены доминирующие виды микро- и макромицетов в микосинузиях деревянных подвальных, этажных и стропильных конструкций семи исторических зданий: *T. viride* и *F. oxysporum* - с плотностью популяции до 38,4 и 76,1%, максимальным пулом  $10^6$  и  $10^7$  КОЕ/г, соответственно, подвальных конструкций *S. lacrymans* - с частотой встречаемости 22,3% и плотностью популяции 4,9%, использованные в качестве тест-объектов в оценке фунгистатического и фунгицидного действия химических препаратов фирмы Remmers (Германия), применяемых в современной реставрационной практике.

Таким образом, возможно применение фунгицидов Adolit M flussig и Impragnierung BFA в качестве превентивных средств на поверхности материалов для подавления микромицетов. Для контроля конвертирующих историческую древесину макромицетов исследованные фунгициды недостаточно эффективны даже в увеличенных концентрациях.

Выявлены достоверные фунгистатический и фунгицидный эффекты всех исследованных концентраций препаратов Adolit M flussig и Impragnierung BFA. В динамике фунгицидное действие препаратов быстро преодолевалось мицелием тест-объектов. Быстрее всего фунгицидный эффект нивелировался мицелием *S. lacrymans* (7 суток), далее по убыванию зоны подавления роста *T. viride* и *F. oxysporum*. Фунгицидное действие обоих препаратов на все тест-объекты пропорционально концентрации химического препарата. Наиболее подвержен фунгицидному действию исследованных препаратов *F. oxysporum*. Определена возможность использования фунгицидов Adolit M flussig и Impragnierung BFA на поверхности материалов для профилактики развития микобиоты.

### Литература

- Андронов Е.Е., Пинаев А.Г., Титова Ю.А., Павлов С.А., Живан В.И. Перспективы использования молекулярного метода в реставрационной микологической экспертизе // Микол. и фитопатол., 2007, 41, 6, с. 487-499.
- Бабицкая В.Г., Щерба В.В. Особенности деградации лигнина природных полимеров оксилотрофами и почвенными сапротрофами // Микробиология, 1994, 1, с. 65-72.
- Беккер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. М., МГУ, 1963, 268 с.
- Беломесяцева Д.Б. Микобиота в консорции можжевельника в Беларуси. ИООО "Право и экономика, Минск, 2004, 236 с.
- Бисько Н.А., Фомина В.И., Володина Е.П., Билай В.Т. Изменение химического состава субстрата при культивировании *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. // Микол. и фитопатол., 1986, 20, 5, с. 392-395.
- Вакин А.Т., Соколов Д.В., Тарханова Р.Ю., Цветкова С.Д. Изыскание методов полноценной пропитки антисептиками древесины ели. // Сб. науч. тр. ЛТА, 110, "Облагораживание древесины и биологическая переработка ее отходов", Л., Изд-во ЛТА, 1968, с. 126-133.
- Воронин Л.В. Сукцессии комплексов грибов на умерших растительных субстратах в малых озерах Воркутинской гундры // Микол. и фитопатол., 2007, 41, 5, с. 403-412.
- Змитрович И.В., Псурцева Н.В., Белова Н.В. Эволюционно-таксономические аспекты поиска и изучения лигнинразрушающих грибов - активных продуцентов окислительных ферментов // Микол. и фитопатол., 2007, 41, 1, с. 57-78.
- Золотарев Ф.Н., Головина Г.И., Сивочуб О.А. Деградация лигнина базидиомицетами // Микол. и фитопатол., 1990, 24, 1, с. 38-44.
- Методы экспериментальной микологии. Справочник. Киев: Наук. думка, 1982, 552 с.
- Рядова М.Н., Титова Ю.А., Серов А.Е., Серов Е.Н., Зыков И.О. Микобиота стропильных конструкций и кирпичной кладки крыши Казанского кафедрального собора // Микология и альгология, 2004. Материалы юбилейной конференции, посвященной 85-летию кафедры микологии и альгологии МГУ им. М.В.Ломоносова. М., МГУ, 2004, с. 116-118.
- Свиридова О.В., Михалева Л.В., Воробьев Н.И., Кочетков В.В. Разложение коры хвойных деревьев грибами и бактериями // Микол. и фитопатол., 2001, 35, 1, с. 38-47.
- Семенкова И.Г. Фитопатология. Дереворазрушающие грибы, гнили и патологические окраски древесины (определятельные таблицы): учеб. пособие. М., ГОУВПОМГУЛ, 2008, 72 с.
- Серов А.Е., Серов Е.Н., Лабутов С.А., Титова Ю.А. Основные результаты обследования конструкций крыши Казанского собора // Актуальные проблемы современного строительства. 56-я Междунар. научн. конферен. молодых ученых. Сборник докладов. С.-Петербург, 2004, I, с. 32-37.
- Серова Т.А., Титова Ю.А. Микобиота исторических зданий Санкт-Петербурга и сукцессии грибов на строи-

тельных конструкциях // Биология - наука XXI века. 17 Междунар. Пушинская школа-конф. молодых ученых: Пушино, 21-26 апреля 2013, с. 557-558.

Синица А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Био-конверсия лигноцеллюлозных материалов: учеб. пособие. М., Изд-во МГУ, 1995, 224 с.

Смоляницкая О.Л. Микромицеты как потенциальные агенты биоповреждения культурных ценностей и стратегия защиты от них в Государственном Эрмитаже. Автореф. канд. дисс., СПб, 2007, 25 с.

Титова Ю.А., Серова Т.А. Микосинузии некробионтных консорциев исторической древесины памятников архитектуры Санкт-Петербурга // Проблемы микологии и фитопатологии в XXI веке. Междунар. научн. конф. СПб, 2-4 октября 2013, с. 267-270.

Транина Н.Ф. К вопросу о взаимоотношениях грибов и бактерий, обитающих в древесине при ее распаде. // Сб. науч. тр. ЛТА, 110, "Облагораживание древесины и биологическая переработка ее отходов", Л., Изд-во ЛТА, 1968, с. 79-90.

Andronov E.E., Pinaev A.G., Titova J.A., Pavlov S.A., Zhivan V.I. Molecular analyses of fungal community in St.-Petersburg historical sites // XV Congress of European Mycologists. Abstracts. St.-Petersburg, 2007, p. 67-68.

Hogberg N., Land C.J. Identification of *Serpula lacrymans* and other decay fungi in construction timber by sequencing of ribosomal DNA - a practical approach //

Holzforschung, 2004, 58, p. 199-204.

Hogberg N., Svegarden I.B., Kausserud H. Isolation and characterization of fifteen polymorphic microsatellite markers for the devastating dry rot fungus *Serpula lacrymans* // Mol Ecol Notes, 2006, 6, p. 1022-1024.

Jasalavich C.A., Ostrofsky A., Jellison J. Detection and identification of decay fungi in spruce wood by restriction fragment length polymorphism analysis of amplified genes encoding rDNA // Applied and environmental microbiology, 2000, 66, 11, p. 4725-4734.

Nicolotti G., Gonthier P., Guglielmo F., Garbelotto M.M. A Biomolecular method for the detection of wood decay fungi: a focus on tree stability assessment // Arboriculture and Urban Forestry, 2009, 35, 1, p. 14-19.

Nilsson T. The degradation of cellulose and the production of cellulose, xylanase, mannanase and amylase by wood-attacking microfungi // Studia forestalia suecica, 1974, 114, p. 60-64.

Schmidt O. Indoor wood-decay basidiomycetes: damage, causal fungi, physiology, identification and characterization, prevention and control // Mycol. Progress, 2007, 6, p. 261-279.

Schwanninger M., Hinterstoisser B. Klason lignin: Modification to improve the precision of the standardized determination // Holzforschung, 56, 2002, p. 161-166.

Titova J.A. Mycobiota of Chinese palace rafters // XV Congress of European Mycologists. Abstracts. St.-Petersburg, 2007, p. 105.

## MYCOBIOTA ON THE HISTORICAL WOOD BUILDINGS OF SAINT PETERSBURG AND THE OPPORTUNITY OF ITS CONTROL BY FUNGICIDES

T.A.Serova, Yu.A.Titova

Specific mycobiota diversity on historical wood buildings of St.-Petersburg is characterized. Dominating micro- and macromycete species in mycosynusia of wooden basement, floor and roof constructions in 7 historical buildings have been revealed and further used as test-objects in estimating Remmers chemicals' (Germany) fungistasis and fungicidal actions. Authentic fungistasis and fungicidal effects of all Adolit M flussig and Impragnierung BFA investigated doses have been revealed and confirmed throughout tests-objects. The dynamics of chemicals' fungicidal action was quickly overcome with test-objects' spawn and was proportional to chemical's dose. The opportunity of the above mentioned fungicides' use on materials' surface for the preventive maintenance of mycobiota development was determined.

**Keywords:** mycobiota, wood, biodestruction, biorecycling, bioconversion, lignophilic macromycetes, fungistasis, fungicide.

T.A.Серова, аспирант, rareavist@mail.ru  
Ю.А.Титова, к.б.н., juli1958@yandex.ru

УДК 004.3:519.87:632.937.12

## ЭКОНОМИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ АВТОМАТИЗАЦИИ РАСЧЕТА НА ЭВМ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ЭНТОМОФАГОВ

Н.Р. Гончаров\*, А.В. Тимофеев\*, Н.И. Воробьев\*\*

\*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

\*\*Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

Дана краткая характеристика алгоритма для автоматизации расчета экономических показателей производства энтомофагов с рассмотрением основных расчетных формул, входных и выходных данных. Приведены некоторые сведения о разработанной программе для ЭВМ и особенностях ее использования.

*Ключевые слова:* экономические показатели, алгоритм, автоматизация расчета, производство энтомофагов, затраты на производство, сложный циклический вычислительный процесс, программа для ЭВМ.

Замедленные темпы использования энтомофагов в России как средства защиты растений часто обусловлены недостаточным экономическим обоснованием технологических регламентов их производства. Выполнение исследований в этом направлении до недавнего времени осложнялось отсутствием соответствующей методической базы. Разработанная в 2012 году во Всероссийском НИИ защиты растений “Методика определения экономических показателей массового производства энтомофагов”, позволяющая производить расчет этих показателей с учетом продолжительности работы обслуживающего персонала и оборудования на каждой операции в этапах техно-

логического процесса, призвана восполнить хотя бы частично вышеупомянутый пробел.

Совершенно очевидно, что широкое применение разработанной методики расчета, предусматривающей использование весьма значительного объема входных данных, возможно лишь при наличии инструментария, обеспечивающего автоматизацию расчета. В рамках создания такого инструментария на базе ПЭВМ, нами разработана экономико-математическая модель, представляющая собой алгоритм для автоматизации расчета экономических показателей производства энтомофагов, который был реализован в соответствующей компьютерной программе.

### Методика исследований

При разработке алгоритма для автоматизации расчета экономических показателей производства энтомофагов использованы: принятые в программировании для ЭВМ приемы составления логических схем циклических вычислительных процессов, а также основные положения и формулы Методики определения экономических показателей массового производства энтомофагов (Гончаров, Белякова, Тимофеев, Козлова, 2012).

Разработанный алгоритм предусматривает выполнение следующих действий. После ввода входных данных осуществляется циклический вычислительный процесс по

определению суммарных прямых затрат на оплату труда, амортизацию оборудования и потребляемую электроэнергию при выполнении всех этапов рассматриваемого технологического процесса. Циклический потому, что в нем есть многократно повторяемые участки вычислений, называемые циклами. Эти участки вычислений имеют необходимое число повторений, причем всякий раз с новыми значениями переменной величины.

Компьютерная программа, реализующая вычисления по данному алгоритму, разработана в среде Microsoft Excel 2007 (язык программирования Visual Basic for Applications).

### Результаты исследований

Во внешнем цикле рассматриваемого нами сложного циклического вычислительного процесса производятся вычисления с выполнением последовательного перебора всех значений номера этапа (i) технологического процесса производства энтомофагов. Во вложенном цикле - всех значений номера операции (j) текущего этапа технологического процесса. В трех внутренних циклах последовательно выполняются вычисления с перебором всех зна-

чений (f) номера должности работника, участвующего в выполнении текущей операции; всех значений (u) номера оборудования, используемого на текущей операции; и всех значений (u<sub>1</sub>) номера электрооборудования, используемого на текущей операции.

В первом из упомянутых выше трех внутренних циклов определяются прямые затраты  $Z_{ij}$  на оплату труда с начислениями при выполнении каждой операции каждого этапа

технологического процесса (руб) по формуле 1:

$$Z_{ij} = \sum_{f=1}^g \frac{N_{ijf} \times R_{ijf}}{H} \times B_{ijf}, \quad (1)$$

где  $N_{ijf}$  - уровень среднемесячной суммарной оплаты труда с начислениями работников, занимающих должности (f) наименования, участвующих в выполнении (j) операции (i) этапа технологического процесса, руб;

g - количество наименований должностей работников, участвующих в выполнении (j) операции (i) этапа технологического процесса;

$R_{ijf}$  - количество работников, занимающих должности (f) наименования, участвующих в выполнении (j) операции (i) этапа технологического процесса, чел;

H - норма рабочего времени за месяц на основе производственного календаря, час;

$B_{ijf}$  - время, затраченное работниками, занимающими должности (f) наименования, на выполнение (j) операции (i) этапа технологического процесса, час.

Во втором внутреннем цикле определяют затраты на амортизацию оборудования  $A_{ij}$  по каждой операции каждого этапа технологического процесса (руб) по формуле 2:

$$A_{ij} = \sum_{u=1}^n \frac{B_{iju} \times M_{iju} \times E_{iju} \times T_{iju}}{100 \times L_{iju}}, \quad (2)$$

где  $B_{iju}$  - первоначальная стоимость оборудования (u) наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса, руб;

n - количество наименований оборудования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса;

u - номер оборудования текущего наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса.

$M_{iju}$  - норма амортизации для оборудования (u) наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса, за год в % к первоначальной его стоимости;

$E_{iju}$  - время использования оборудования (u) наименования на (j) операции (i) этапа технологического процесса при выполнении

объема работ, соответствующего одному циклу производства биосредств, час;

$L_{iju}$  - время использования оборудования (u) наименования на (j) операции (i) этапа технологического процесса в течение года, час;

$T_{iju}$  - количество единиц оборудования (u) наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса, шт.

В третьем внутреннем цикле производится определение затрат на электроэнергию потребляемую электрооборудованием по каждой операции  $\Xi_{ij}$  каждого этапа технологического процесса (руб) по формуле 3:

$$\Xi_{ij} = \sum_{u1}^{n1} Q_{iju1} \times E_{1iju1} \times T_{1iju1} \times C_{\Xi}, \quad (3)$$

где  $n_1$  - количество наименований электрооборудования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса;

$u_1$  - номер электрооборудования текущего наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса;

$Q_{iju1}$  - мощность, потребляемая электрооборудованием ( $u_1$ ) наименования, используемым на (j) операции (i) этапа технологического процесса, кВт;

$E_{1iju1}$  - время использования оборудования ( $u_1$ ) наименования на (j) операции (i) этапа технологического процесса при выполнении объема работ, соответствующего одному циклу производства биосредств, час;

$T_{1iju1}$  - количество единиц оборудования ( $u_1$ ) наименования, используемого на (j) операции (i) этапа технологического процесса, шт.

$C_{\Xi}$  - цена электроэнергии, руб/кВт час.

Далее во вложенном цикле сложного циклического вычислительного процесса определяются затраты на оплату труда с начислениями при выполнении (i) этапа технологического процесса  $Z_i$  как сумма прямых затрат на оплату труда по выполнению всех включенных в него операций. Вычисляются затраты на амортизацию оборудования, используемого на (i) этапе технологического процесса производства биосредства  $A_i$  как сумма амортизационных отчислений на все используемое оборудование всех операций этапа. Определяются затраты на электроэнергию, потребля-

емую оборудованием, используемым при выполнении (i) этапа производства энтомофагов  $\Xi_i$ , как сумма затрат на электроэнергию, потребляемую на всех операциях этапа всем используемым на них оборудованием.

Затем управление передается группе операторов внешнего цикла, определяющих значение суммарных прямых затрат  $Z$  на оплату труда с начислениями при выполнении рассматриваемого технологического процесса как сумму прямых затрат на оплату труда по выполнению всех составляющих его этапов, значение суммарных прямых затрат  $A$  на амортизацию оборудования, используемого в технологическом процессе как сумму амортизационных отчислений на все используемое оборудование всех его этапов и значение суммарных прямых затрат  $\Xi$  на электроэнергию, потребляемую оборудованием, используемым при выполнении технологического процесса, как сумму затрат на электроэнергию, потребляемую на всех этапах технологического процесса всем используемым на них оборудованием.

После выполнения описанного выше сложного циклического вычислительного процесса управление получает группа операторов, реализующих вычислительный процесс по определению затрат на расходные материалы, используемые при производстве биосредства  $P$ , которые определяются по формуле 4:

$$P = \sum_{y=1}^z C_y \times D_y, \quad (4)$$

где  $y$  – номер расходного материала текущего наименования, используемого в производстве энтомофагов;

$C_y$  - цена приобретения расходного материала ( $y$ ) наименования, в рублях;

$z$  - количество наименований расходных материалов, используемых в производстве;

$D_y$  - количество расходного материала ( $y$ ) наименования.

Далее осуществляется расчет затрат на общехозяйственные (прочие) расходы  $O$  по каждому виду работ в соответствии с принятой в учреждении учетной политикой в процентном отношении к прямым затратам на оплату труда на основе данных предшеству-

ющего периода.

Затем определяются затраты  $I_{ц}$  на выполнение всего комплекса работ технологического процесса производства энтомофагов, представляющего собой завершённый производственный цикл, по формуле 5:

$$I_{ц} = (Z + A + \Xi + P + O) \times (1 + \text{НДС}/100), \quad (5)$$

где НДС- налог на добавленную стоимость.

В течение года может быть осуществлен ряд циклов производства ( $\Phi$ ) рассматриваемого биосредства. Производственные циклы выполняются последовательно один за другим со сдвигом во времени, продолжительность которого лимитируется самой длительной операцией технологического процесса, выполняемой с использованием определенного набора оборудования в отдельном помещении. Значение количества циклов определяется как частное от деления количества дней в текущем году ( $K_r$ ) на продолжительность технологического сдвига ( $K_0$ , дней) во времени между последовательно выполняемыми производственными циклами.

Затраты на годовой объем производства энтомофагов определяют как произведение затрат на производство биосредства в объеме, соответствующем одному производственному циклу на количество циклов, которое может быть осуществлено в течение года.

Себестоимость производства 1 тыс. штук особей энтомофага для реализации определяется как частное от деления общих годовых затрат на объем производства энтомофагов для реализации в тыс. штук особей. Сопоставляя себестоимость с ценами реализации, принимают решение о целесообразности наработки энтомофагов для коммерческой реализации.

В заключение, при необходимости, определяются дополнительные показатели, которые обычно бывают востребованы при обосновании бизнес-планов массового производства энтомофагов. Основными из них являются затраты денежных средств и труда в течение года по наименованиям должностей исполнителей в расчете на производство 1 тыс. штук особей энтомофагов для реализации; потребность в площадях производственных по-



мещений (по видам целевого использования), в основных средствах по их наименованиям и в расходных материалах по их видам в расчете на производство 1 тыс. штук особей энтомофагов для реализации.

Компьютерная программа для автоматизи-

зации расчета экономических показателей производства энтомофагов разработана таким образом, что расчеты всех наименований распределены между семью окнами (рис. 1).



Рис. 1. Каскад окон программы вычислений

Как видно из рисунка, для выполнения необходимых вычислений используются следующие окна программы: окно для вычисления затрат на оплату труда, окно для вычисления затрат на амортизацию оборудования, окно для вычисления затрат на электроэнергию, окно для вычисления затрат на расходные материалы, окно для вычисления удельных потребностей в производственных площадях, окно для вычисления удельных потребностей в оборудовании и окно для формирования смет финансовых затрат. На рисунке 2 показано изображение окна Microsoft Excel для формирования итоговых финансовых смет.

Вычисления нужно производить путем нажатия кнопок в соответствующих окнах в указанном порядке, то есть начинать с кнопки «Вычисление затрат на оплату труда» первого окна и заканчивать кнопкой «Формирование смет финансовых затрат» последнего окна. Перед нажатием кнопок следует ввести все исходные данные для расчетов в таблицы соответствующих окон.

Программа предназначена для специалистов в сфере производства и применения биологических средств защиты растений. Она

может быть использована для экономической оценки технологий производства энтомофагов, а также для обеспечения ускоренного обоснования рациональных вариантов технологических процессов.

Смета финансовых затрат на производство энтомофага за один производственный цикл		
№ пп.	Статья затрат	Затраты за один производственный цикл, руб.
1	Зарботная плата с начислениями	2109,33
2	Амортизация оборудования	499,44
3	Затраты на электроэнергию	4483,21
4	Затраты на расходные материалы	656,00
5	Общехозяйственные расходы	1054,67
6	Итого	8802,65
7	НДС, 18%	1584,48
8	Всего	10387,13

Смета финансовых затрат на производство энтомофага за год		
№ пп.	Статья затрат	Затраты за год, руб.
1	Зарботная плата с начислениями	63279,90
2	Амортизация оборудования	14983,09
3	Затраты на электроэнергию	134496,30
4	Затраты на расходные материалы	19680,00
5	Общехозяйственные расходы	31640,10
6	Итого	264079,39
7	НДС, 18%	47534,29
8	Всего	311613,68

Рис. 2. Окно формирования итоговых смет финансовых затрат

Использование программы позволяет ограничить возможные ошибки в большом объеме цифровых данных, упростить расчеты и многократно сократить затраты труда и времени на их выполнение.

Программа для автоматизации расчета

Литература

Гончаров Н.Р., Белякова Н.А., Тимофеев А.В., Козлова Е.Г. Методика определения экономических показателей массового производства энтомофагов // Брошюра, ВНИИ защиты растений, Инновационный центр защиты растений, СПб, 2012, 32 с.

Гончаров Н.Р., Тимофеев А.В., Воробьев Н.И.

экономических показателей производства энтомофагов зарегистрирована в Реестре программ для ЭВМ Федеральной службы по интеллектуальной собственности – Роспатент (Гончаров, Тимофеев, Воробьев, 2013).

Программа для автоматизации расчета экономических показателей производства энтомофагов // Программы для ЭВМ, базы данных, топологии интегральных микросхем, Официальный бюллетень федеральной службы по интеллектуальной собственности, 2013, №3, с. 1.

#### ECONOMIC AND MATHEMATICAL MODEL TO AUTOMATE THE CALCULATION OF ECONOMIC INDICATORS OF ENTOMOPHAGE PRODUCTION

N.R.Goncharov, A.V.Timofeev, N.I.Vorobyov

An algorithm profile to automate the calculation of economic indicators of entomophage production is given with consideration of computational formulas, input and output data. Some information on the developed computer program and features of its use is provided.

*Keywords:* economic indicator, algorithm, automated calculation, entomophage, production cost, computational process, computer program.

Н.Р.Гончаров, к.с.-х.н., nrg@iczi.ru  
А.В.Тимофеев, к.т.н.  
Н.И.Воробьев, к.т.н.

UDC 582.998.3:632.937.12(470)

**INTRODUCTION OF PHYTOPHAGOUS INSECTS FOR BIOLOGICAL SUPPRESSION  
OF COMMON RAGWEED (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.)  
IN RUSSIA: RETROSPECTIVE OVERVIEW**

**L.P. Esipenko\*, A.S. Zamotajlov\*\***

\*All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Krasnodar

\*\*Kuban State Agrarian University, Krasnodar

Overview of the development of Common ragweed biological control in Russia based on the use of adventive phytophagous insect species introduced from Canada and the United States are summed up. Prospects of the further introduction of adventive herbivores are discussed.

*Keywords:* Common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.), phytophagous insect, introduction, biological control.

**Biological and historical considerations**

Vegetative organisms in their natural habitats are represented mainly as more or less complicated communities (phytocenoses), in which all components are closely connected both with each other and with the different components of environment. Invasion of adventive vegetative organisms, quite often becoming later wide-spread weeds and official quarantine objects, leads to decrease of phytocenosis biomass and pauperization of its specific structure. Wide and intensive spread of such organisms is caused mainly by the lack of natural enemies' complex at the newly populated territories, which usually prevents their intensive breeding and spread. Nowadays, phytocenoses of Krasnodar Territory of Russia are characterized by presence of the following wide-spread plant quarantine organisms: Common ragweed *Ambrosia artemisiifolia* Lin

naeus, 1753; Great ragweed *Ambrosia trifida* Linnaeus, 1753; Perennial ragweed *Ambrosia psilostachya* De Candolle, 1836; Russian knapweed *Acroptilon repens* (L.) De Candolle, 1827; Cutleaf nightshade *Solanum triflorum* Nuttall, 1881; a number of *Convolvulus* and *Cuscuta* species, etc.

The greatest harm to the natural indigenous phytocenoses of all above listed weeds is caused by Common ragweed. It was first found in Kuban Region in 1914 (Vasiliev, 1958), being now wide-spread in all municipalities and districts of Krasnodar Territory, populating an area above 4.6 million hectares. Strong infestation with ragweed is noted in Krasnodar, Stavropol and Rostov Regions of Russia and in a number of republics of the Northern Caucasus (Nadtochiy, 2003, etc.). Ragweed is also wide-spread in Ukraine and some other countries adjacent to Russia (Protopopova et al., 2006).

**Efficiency of introduction**

Initiation of biological method of ragweed suppression, started by Dr. O.V. Kovalev, aimed to the selection of the specific phytophage or pathogen complexes (insects, mites, fungi), attacking ragweed at all stages of its development (Kovalev, 1971, 1979). The most effective phytophages of the revealed complex were introduced to Stavropol and Krasnodar Territories in 1967-1979 (Goeden et al., 1974). All the selected species were tested using so-called "centrifugal test method" (Wapshere, 1974) to confirm probability of their transition to fodder plants cultivated at the territory of the former Soviet Union. Totally 80 plant species belonging to 46 genera and 18 families were tested (Kovalev, 1969). Four insect species were selected as the most perspective for building the artificial complex of natural enemies

of ragweed during this research.

*Tarachidia candefacta* Hubner, 1831 (Lepidoptera, Noctuidae). The first release was made in 1969 in the Northern Caucasus (Gilstrap, Goeden, 1974). The species population density remained very low during several years after its introduction due to high death rate of its larvae being caused by predators, so it was recognized to be hardly promising in the ragweed biological control (Goeden, Andres, 1999). In 2004, however, the number of this cutworm began to increase unexpectedly and suppress the ragweed rather essentially in the second half of summer. In this connection, the biological agent in question was finally considered as perspective for the ragweed suppression. A technique for its mass cultivation with subsequent release to artificial environments

is still developing (Esipenko, Agasieva, 2008; Matishev et al., 2011).

*Brachytarsus tomentosus* (Say, 1827) (Coleoptera, Anthribidae). This beetle feeding on the ragweed pollen was first released in 1978 in the Northern Caucasus; the actual results of its introduction are unknown (Kovalev, 1979).

*Euaresita bella* Loew, 1873 (Diptera, Tephritidae). It was released in the Northern Caucasus in 1970. Larvae of this fly feeds on ragweed seeds; the results of introduction are unknown (Kovalev, 1979).

*Zygogramma suturalis* (Fabricius, 1775) (Coleoptera, Chrysomelidae). The first release of this phytophage in a quantity of 1500 specimens was carried out at the vicinities of Stavropol in 1978 (Kovalev, 1981; Goeden, Andres, 1999). In a year this chrysomelid beetle had increased its populated territory to one hectare. Distributional dynamics of this species in subsequent years is following: 1980 - 4 hectares, 1981 - 200 hectares, 1982 - 600 hectares, 1983 - 5500 hectares, 1984 - 20000 hectares, 1986 - 300000 hectares (Kovalev, 1989). Quick expansion of this species was observed till reaching the critical density providing the destruction of ragweed. That period may be characterized as the time of "ecological explosion". Later, in 1985, so-called "solitary population wave" of this species, moving without change of the shape with constant speed and destroying ragweed, was observed and described. Such effect was reached due to extremely high population density of the beetle (Kovalev, Vecherin, 1986; Kovalev, 2008). Now the chrysomelid population density is insufficient for providing such a wave. During the maximal population density period *Z. suturalis* demonstrated its potential opportunities in breeding and expansion of its distributional range at favorable abiotic conditions and complete absence of competitors. The species number peak was followed with aggravations with biotic environment and development of intraspecific and interspecific relations with the native species. Possibly, these adverse facts led to the decrease in its number. At present the number of the phytophage is stabilized at certain level depending on conditions of its peculiar habitats.

One of the important factors limiting the *Z. suturalis* population growth during the spring period is its interaction with *Perillus bioculatus*

(Fabricius, 1775) (Heteroptera, Pentatomidae). This predatory bug was introduced in 1960-1970 to Krasnodar Territory for biological suppression of the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say, 1824. The results of its acclimatization were recognized unsuccessful and the further situation with the predatory bug in this region was unknown for the long period. However, in September 2007, one specimen of the predator (male) was occasionally found at the territory of the All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection (Krasnodar). In May 2008, during the inspection of the ragweed thickets remained on the field as the *Z. suturalis* reservation, numerous larvae of *P. bioculatus* (20 to 30 specimens per m<sup>2</sup>) actively feeding on herbivore larvae (Ismailov et al., 2008) were found. The bugs leave places of hibernation in early spring, before occurrence of the wintered specimens of the Colorado beetle, and rush in search of food. During the same period, *Z. suturalis* leaves its hibernation localities. Noteworthy, it taxonomically belongs to the tribe Doryphorini, the same as *L. decemlineata*. Thus, *P. bioculatus* apparently has to feed on *Zygogramma* during the spring period before the appearance of Colorado beetle. The given phenomenon seems to be quite normal in the natural conditions of these species habitation at the present time.

The first reconnoitering experimental releases of *Z. suturalis* in the Russian Far East took place in 1982-1983 and were organized by Drs. V.N. Kuznetsov and S.S. Izhevskiy. They appeared to be successful. Overwintering of the chrysomelid beetle population at the new area formed a basis for the further work with this biological agent. The first mass release of *Z. suturalis* was carried out in 1985 at several sites strongly overgrown with ragweed in Chernigov (village of Dmitrievka) and Spassk (village of Dubovskoye) districts. In total, 280 thousand specimens were delivered. In 1986 further 154 thousand alive beetles were released (Kuznetsov, Esipenko, 1991). Further work was based solely on the naturally wintered specimens of the chrysomelid beetle in question. However, suppression of ragweed by *Z. suturalis* was low because of its low natural population density caused by a number of reasons, the major ones being probably unfavorable nature and climatic conditions of hibernation. During further 4

years, the chrysomelid beetle passed an acclimatization process (phase of naturalization), till balance with environment by individual adaptations within the limits of its norm of reaction was established. The wintered specimens became founders of new populations.

Conditions of the Primorskiy Territory are critical for this chrysomelid species, since it is affected by a powerful influence of the environment. Anyway, ecological plasticity of this species has allowed it to adapt for the new conditions, resulting in changes of its biological structure visualizing in structure and frequencies of normal and abnormal phenes (Esipenko, 2009). During the period 1986-1988, the phytophage occupied the territory of 4.5 hectares, and by 2006 it populated Dalnerechensk, Achuevo, Anuchensk, and Ussuriysk districts and seems to adopt perfectly in the new areas. The average population

density reached to 5-6 beetles per m<sup>2</sup>, in some places - to 15-20 specimens per m<sup>2</sup>. It is necessary to note its high aggression (Esipenko, 2011).

The present review is only the first stage in the development of biological method of suppression of adventive weeds in Russia. Despite some negative conclusions made by several explorers, it will be obviously continued in the future. The given work requires continuation, which will allow avoiding numerous mistakes in the new Common ragweed phytophage introduction, such as *Epiblema strenuana* (Walker, 1863) (Lepidoptera, Tortricidae) and *Ophraella communa* LeSage, 1986 (Coleoptera, Chrysomelidae) (Zhou et al., 2010), to the territory of southern Russia.

The authors are thankful to all colleagues who contributed to their field studies and communicated useful information.

#### References

- Esipenko L.P. History of the control of adventive weed vegetation in Russia by biological methods and prospects of its use in suppression of Ragweed *Ambrosia artemisiifolia* L. (Asteraceae) // Nauka Kubani, 2009, 3, p. 4-9. (In Russian).
- Esipenko L.P. Population structure of Ragweed chrysomelid beetle *Zygogramma suturalis* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae) in the Northern Caucasus and at Primorje Territory // Newsletter VPS/ISB, 2011, 42, p. 77-80. (In Russian).
- Esipenko L.P., Agasjeva I.S. Method of seasonal colonization of Ragweed cutworm *Tarachidia candefasta* Hohn. (Noctuidae, Lepidoptera) in biological suppression of Ragweed *Ambrosia artemisiifolia* L. (Ambrosiaceae, Asteraceae) in agrarian landscapes of the Northern Caucasus // Contribution of basic researches to the development of modern innovative economy of Krasnodar Territory. Krasnodar, 2008, p. 51-52. (In Russian).
- Gilstrap F.E., Goeden R.D. Biology of *Tarachidia candefasta*, a Nearctic noctuid introduced into the U.S.S.R. for ragweed control // Ann. Ent. Soc. Amer., 1974, 67, p. 265-270.
- Goeden R.D., Andrés L.A. Biological control of weeds in terrestrial and aquatic environments // Handbook of Biological Control: Principles and Applications / Bellows T.S., Fisher T.W. (eds.). San Diego-New York: Academic Press, 1999, 1046 p.
- Goeden R.D., Andrés L.A., Freeman T.E., Harris P., Pienkowski R.L., Walker C.R. Present status of projects on the biological control of weeds with insects and plant pathogens in the United States and Canada // Weed Sci., 1974, 22, p. 490-495.
- Ismailov V.J., Esipenko L.P., Agasjeva I.S., Stepanov D.V., Podolskaya L.V. Predatory bug *Perillus bioculatus* F. (Hemiptera, Pentatomidae): some results of acclimatization and new prospects // Biological protection of plants - a basis of stabilization of agroecosystems. Edition 5. Krasnodar, 2008, p. 114-116 (Materials of the 5-th International scientific-practical conference "Biological protection of plants - a basis of stabilization of agroecosystems"). (In Russian).
- Kovalev O.V. Biological control of *Ambrosia* weeds // Proceedings of the 7th International Congress of Plant Protection, Paris, France. Paris, 1969, p. 354-355.
- Kovalev O.V. Biological struggle with weed plants in the USSR // Condition of introduction and acclimatization of perspective entomophages, acariphages and phytophages of the main pests and weeds in the countries-members of EPS/IOBC. Kiev, 1979, p. 55-58. (In Russian).
- Kovalev O.V. Dissemination of adventive plants of ragweed in Eurasia and development of biological struggle with the weeds of the genus *Ambrosia* L. (Ambrosiaceae, Asteraceae) // Theoretical bases of biological struggle with ragweed / Kovalev O.V., Belokobylskij S.A. (eds.). Leningrad: Nauka, 1989, p. 7-23. (In Russian).
- Kovalev O.V. Formation of the soliton-like waves during invasion of organisms and in the evolution of biosphere // Evolutsyonnaya biologiya. Tomsk, 2008, 2, p. 65-81. (Conference "Some problems of species and water formation"). (In Russian).
- Kovalev O.V., Vechernin V.V. Description of new wave process in the populations on an example of introduction and movements of Ragweed Cutworm *Zygogramma suturalis* F. (Coleoptera, Chrysomelidae) // Entomol. Obozr., 1986, 65, p. 21-38. (In Russian).
- Kusnetsov V.N., Esipenko L.P. Use of Ragweed chrysomelids in biological suppression of ragweed in Primorskiy Territory. Vladivostok, 1991, 17 p. (In Russian).
- Matishov G.G., Esipenko L.P., Iljina L.P., Agasjeva I.S. Biological ways of struggle with Ragweed in the anthropogenous phytocenoses in the South of Russia. Rostov-on-Don: Russian Academy of Sciences, 2011, 144 p. (In Russian).
- Nadtochiy I.N. Area and zones of harmfulness of Ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.). 2003. [http://www.agroatlas/spb.ru/weeds/Meta\\_Ambrosia\\_artemisiifolia\\_ru.htm](http://www.agroatlas/spb.ru/weeds/Meta_Ambrosia_artemisiifolia_ru.htm). (In Russian).
- Protopopova V.V., Shevera M.V., Mosyakin S.I. Deliberate and unintentional introduction of invasive weeds: a case study of the alien flora of the Ukraine. Euphytica, 2006,

Vasiliev D.S. Ragweed and measures of its control. Krasnodar, 1958, 84 p. (In Russian).

Wapshere A.J. A strategy for evaluating the safety of organisms for biological weed control // Ann. Appl. Biol., 1974, **77**, p. 201-211.

Zhou Zhong-Shi, Guo Jian-Ying, Chen Hong-Song, Wan Fang-Hao. Effects of temperature on survival, development, longevity, and fecundity of *Ophraella communa* (Coleoptera: Chrysomelidae), a potential biological control agent against *Ambrosia artemisiifolia* (Asterales: Asteraceae) // Entomological Society of America, 2010, 39, 3, p. 1021-1027.

ИНТРОДУКЦИЯ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОДАВЛЕНИЯ  
АМБРОЗИИ ПОЛЫННОЛИСТНОЙ (*AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA* L.) В РОССИИ:  
РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОБЗОР

Л.П.Есипенко, А.С.Замотайлов

Подведены итоги развития биологического метода борьбы против амброзии полыннолистной на территории России с помощью интродуцированных из Канады и США адвентивных видов насекомых-фитофагов. Анализируются перспективы интродукции гербифагов.

Ключевые слова: амброзия полыннолистная, *Ambrosia artemisiifolia*, насекомые, фитофаг, интродукция, биологический контроль.

Л.П.Есипенко, к.б.н., esipenkol@yandex.ru  
А.С.Замотайлов, д.б.н., a\_zamotajlov@mail.ru

УДК 632.768.23/951

## ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИНСЕКТИЦИДЫ В БОРЬБЕ СО СВЕКЛОВИЧНЫМ ДОЛГОНОСИКОМ-СТЕБЛЕЕДОМ

Т.И. Васильева, Л.А. Буркова

*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург*

В условиях современной продолжающейся дестабилизации фитосанитарной обстановки в агробиоценозах сахарной свеклы наблюдается перераспределение доминантных и второстепенных видов. К числу опасных вредителей культуры помимо щелкунов, серого и обыкновенного свекловичных долгоносиков, свекловичных блошек и щитососок, свекловичной тли и других в настоящее время можно отнести и свекловичного долгоносика-стеблееда *Lixus subtilis*. Приведены результаты оценки биологической эффективности неоникотиноидов ими-дора (0.4 л/га), протеуса (1.0 л/га) и тиара (0.1 л/га) в борьбе с ним.

*Ключевые слова:* сахарная свекла, свекловичный долгоносик-стеблеед, биологическая эффективность неоникотиноидов.

Свекловичный долгоносик-стеблеед *Lixus subtilis* Boheman - представитель подсемейства клеонин (Coleoptera: Curculionidae) - одного из самых крупных среди отряда жесткокрылых, включающих около 1.5 тыс. видов, приблизительно половина которых представлена в Палеарктике и около 500 - в фауне б. СССР. В России свекловичный долгоносик-стеблеед впервые был обнаружен на сахарной свекле на Алтае (Бей-Биенко, 1929), в последующие годы ареал его значительно расширился: Казахстан, Западная Сибирь, Поволжье, Северный Кавказ. В настоящее время он известен в Краснодарском крае, Украине, Белоруссии, Узбекистане, Киргизии, Северном Китае, Сирии, Иране, Турции, Монголии, Германии, Австрии, Болгарии, Венгрии, Южной Словении и Италии.

Биология свекловичного долгоносика-стеблееда в отдельных зонах возделывания культуры в значительной степени изучена (Романова, 1928; Тер-Минасян, 1967; Кривошеина, 1974, 1976; Исмухамбетов, 1988; Темиржанова и др., 1988; Легалов, 1998; Воловник, 2007; Рябчинский, 2010). Показано, что жуки и диапаузирующие личинки зимуют в почве на участках с сорной растительностью. Весной с первыми теплыми днями, что совпадает с прогревом почвы до 10-15°C, начинается выход имаго с мест зимовки. Жуки концентрируются на прорастающих сорняках, в основном на щирце запрокинутой (семейство

Amaranthaceae - *Am. retroflexus* L.), лебеде белой (сем. Chenopodiaceae - *Chenopodium album* L.), лебеде татарской (*Atriplex tatarica* L.) и других, где в течение всего вегетационного сезона встречаются в большом количестве. С сорняков имаго свекловичного долгоносика-стеблееда переходят на всходы сахарной свеклы или высадки ее на семена. В первую очередь долгоносики заселяют края поля, но через 7-10 дней их численность выравнивается по всему полю. Вскоре они начинают спариваться, и этот процесс продолжается с мая до августа, откладка яиц растянута и происходит с июня по август. Средняя плодовитость одной самки варьирует от 10 до 60 яиц, период развития личинки составляет 20-25 дней, куколки - 15-20 дней. Окукливание отмечается во второй половине июля, а в начале августа появляются имаго нового поколения. Жуки активны днем, в прохладную погоду находятся в верхнем слое почвы на глубине 2-4 см. Обычно этот вид развивается в одном поколении, второе наблюдается редко.

До середины 1970-х годов этот вредитель отмечался как второстепенный в агробиоценозе сахарной свеклы, но в засушливые годы наносил ощутимый вред посевам и посадкам культуры. В последние годы в ЦЧЗ России и Поволжье в условиях высоких температур воздуха и дефицита влаги наблюдается интенсивное развитие, распространение и повышенная вредоносность свекловичного долго-

носики-стеблееда, что вызвало необходимость уточнения его биологии для разработки целенаправленных мер борьбы. Как показали наши исследования в ЦЧЗ (Белгородская область), СДС на свекле обнаруживается с третьей декады мая, единичные особи могут фиксироваться и раньше, личинки появляются во второй декаде июня, жуки нового поколения - в конце июля. Вред культуре наносят как имаго, снижая урожайность семян сахарной свеклы и обгрызая края листьев растений, так и личинки, которые проделывают ходы и выедают ткани внутри стеблей или черешков листьев сахарной свеклы, вызывая их ломкость в местах разрастания ткани после укуса, а также преждевременное усыхание листьев. В один стебель или черешок листа самка может откладывать до 10 яиц, однако, как правило, развитие завершает 1 жук, в редких случаях 5-8 особей, при этом потери массы корнеплодов составляют 8-30% (Исмухамбетов, 1988; Волоник, 2007). В то же время в опытах В.З.Шаминой и Р.В.Батинова (1999) было установлено, что при 80-100% заселении жу-

ком посевов и при наличии не более 6 повреждений на растении вредоносность объекта можно считать незначительной.

Степень заселенности и повреждения растений вредителем зависит от метеорологических условий и общего состояния свеклы. На полях с хорошо развитыми растениями сахарной свеклы количество личинок, успешно завершающих развитие, больше, чем на полях со слабыми, медленно вегетирующими растениями, хотя ущерб в последнем случае оказывается более значительным. Одной из возможных причин снижения численности личинок вредителя может быть обильное выпадение осадков, вызывающих быстрый рост растений.

В современном "Списке пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации", ассортимент инсектицидов в борьбе со свекловичным долгоносиком-стеблеедом на сахарной свекле отсутствует, в связи с чем нами в 2012 - 2013 гг. было начато изучение инсектицидов из класса неоникотиноидов.

#### **Методика исследований**

Изучаемые инсектициды имидазол, ВРК (д. в. 200 г/л имидаклоприда) ЗАО "Щелково Агрохим", смесевой препарат протеус МД (д.в. 100 г/л тиаклоприда + 10 г/л дельтаметрина) фирмы Байер КронСайенс АГ и тиара КС (д.в. 350 г/л тиаметоксана) ООО НПО "Росагрохим".

Растения разово опрыскивали препаратами с помощью ручного опрыскивателя "Mesto" при появлении имаго и единичных повреждений черешков листьев или достижении вредителем экономического порога вредно-

ности (ЭПВ= 2 имаго/метр погонный). Площадь опытной делянки составляла 50 м<sup>2</sup>, повторность 4-кратная. Опыты выполнялись в 2-х почвенно-климатических зонах: Белгородской и Саратовской областях и Волгоградской области.

Биологическую эффективность инсектицидов определяли по снижению числа поврежденных черешков листьев стеблеедом на 25 растениях в каждой повторности опыта через 20 суток после обработки относительно контроля (Методические указания ...2009).

#### **Результаты исследований**

В 2012 году в Белгородской и Саратовской областях в условиях повышенной температуры воздуха проведено испытание препарата имидазол ВРК (200 г/л). Действующее вещество данного инсектицида - имидаклоприд обладает свойствами, характерными для представителей класса неоникотиноидов - проявляет трансламинарную и системную активность.

В Саратовской области обработка делянок была проведена при появлении имаго и первых повреждений растений в фазу 3 пар настоящих листьев. В контрольном варианте было повреждено 63.0% черешков листьев, на

делянках, обработанных инсектицидом имидазол ВРК (200 г/л) в норме применения 0.4 л/га, поврежденность черешков снизилась на 90.5%, в меньшей норме применения (0.25 л/га) - на 81.0% (табл. 1).

В Белгородской области из-за выпавших обильных осадков опрыскивание делянок было проведено позже - в фазу 4-5 пар настоящих листьев, когда основная часть личинок уже отродилась. В сложившихся погодных условиях эффективность препарата в двух нормах применения оказалась невысокой: 55.8% и 46.6%.



Таблица 1. Биологическая эффективность инсектицида имидор, ВРК (200 г/л) в борьбе со свекловичным долгоносиком-стеблеедом на свекле сахарной (2012 г.)

Варианты	Место проведения опыта	Фаза развития растений в момент обработки	Норма применения препарата, л/га	Повреждено черешков листьев, %	Снижение поврежденности относительно контроля, %
Имидор ВРК (200 г/л)	Саратовская область	2-3 пары листьев	0.4	6.0	90.5
Контроль			0.25	12.0	81.0
Имидор ВРК (200 г/л)			-	63.0	НСР <sub>0.05</sub> = 9.0
Имидор ВРК (200 г/л)	Белгородская область	4-5 пары листьев	0.4	40.7	55.8
Контроль			0.25	49.2	46.6
Имидор ВРК (200 г/л)			-	92.5	НСР <sub>0.05</sub> = 8.5

Полученные данные показали, что обработку против свекловичного долгоносика-стеблееда целесообразно проводить в фазу 2-3 пар настоящих листьев, когда происходит заселение посевов и откладка яиц вредителем. Применение инсектицида имидор ВРК (200 г/л) в норме расхода 0.4 л/га в оптимальный срок обеспечило высокий защитный эффект против вредителя.

В 2013 г. было проведено изучение

неоникотиноида тиара КС (350 г/л) и смешанного препарата протеус МД (100 + 10 г/л). Погодные условия года также способствовали массовому появлению вредителя на посевах сахарной свеклы. Первые имаго и единичные повреждения черешков листьев были обнаружены 7 июня в Белгородской и на неделю позже - в Саратовской и Волгоградской областях. Опрыскивание растений проводили в фазу 3 пар настоящих листьев (табл. 2).

Таблица 2. Биологическая эффективность инсектицидов в борьбе со свекловичным долгоносиком-стеблеедом на свекле сахарной (2013)

Варианты	Место проведения опыта	Норма применения препарата, л/га	Повреждено черешков листьев, %	Снижение поврежденности относительно контроля, %
Протеус МД (100+10 г/л)	Белгородская область	0.5	32.6	67.4
Контроль		0.75	27.4	72.6
Протеус МД (100+10 г/л)		1.0	11.0	89.0
Контроль		-	100	НСР <sub>0.05</sub> = 8.7
Протеус МД (100+10 г/л)	Саратовская область	0.5	17.2	74.7
Контроль		0.75	10.0	85.1
Протеус МД (100+10 г/л)		1.0	5.2	92.3
Контроль		-	67.2	НСР <sub>0.05</sub> = 8.8
Тиара КС (350 г/л)	Волгоградская область	0.05	11.2	75.2
Имидор ВРК (200 г/л) эталон.		0.1	5.2	88.5
Контроль		0.4	7.2	84.0
Имидор ВРК (200 г/л)		-	45.2	НСР <sub>0.05</sub> = 8.7

В контрольном варианте установлена 100% поврежденность вредителем растений в Белгородской и более низкая (67.2%) - в Саратовской области. В вариантах с инсектицидом протеус МД (100+10 г/л) в максимальной норме расхода число поврежденных черешков снизилось на 89.0 и 92.3%, в вариантах с изучаемым препаратом в меньших нормах расхода и эталонном поврежденность растений до-

стоверно была выше. Биологическая эффективность инсектицида тиара КС (350 г/л) в норме применения 0.1 л/га против свекловичного долгоносика-стеблееда в Волгоградской области была на уровне эталона и составляла 88.5%, и с уменьшением нормы расхода защитный эффект исследуемого препарата достоверно снижился.

### Заключение

Показано, что при повышенной численности свекловичного долгоносика-стеблееда изученные неоникотиноиды имидор (0.4 л/га), протеус (1.0 л/га) и тиара (0.1 л/га) снижали поврежденность черешков листьев культуры на 88.5-92.3% в течение 20 суток после обработки и защищали культуру в период массового появления вредителя.

Установлено, что оптимальным сроком проведения защитных мероприятий в борьбе с вредителем является появление имаго на сахарной свекле и единичных повреждений че-

решков листьев в фазу 3 пар настоящих листьев или при достижении ЭПВ - 2 жука/м погонный. В годы массового размножения вредителя необходима повторная обработка растений при критической численности (ЭПВ).

Наряду с применением инсектицидов одним из возможных экологических и эффективных приемов защиты сахарной свеклы от вредителя является своевременное уничтожение сорной растительности, особенно из семейств амарантовых и маревых, являющихся резервациями вредителя в летний период и зимовки.

### Литература

Бей-Биенко Г. Я. Материалы к познанию вредителей сахарной свеклы Алейского района Барнаульского округа // Тр. Сибирск. ин-та с.х-ва и лесоводства, 1929, 13, 1-2, с. 193 - 200.

Воловик С.В. О распространении и экологии некоторых видов долгоносиков-клеонин (Coleoptera, Curculionidae). IV. Род *Lixus* F., подрод *Eulixus* Reitt. [Текст] // Энтомологическое обозрение, 2007, 86, 3, с. 521-531.

Кривошеина Н.П. Клеонины - вредители маревых // Защита растений, 1974, 10, с. 42.

Кривошеина Н.П. Долгоносики - стеблееды рода *Lixus* // Защита растений, 1976, 10, с. 41 - 42.

Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и рентицидов в сельском хозяйстве (под ред. В.И. Долженко), СПб, 2009, 321 с.

Легалов А.А. Широотно-зональное распределение жу-

ков-долгоносиков (Coleoptera) равнин Зап. Сибири, Казахстана и Средней Азии // Автореф. канд. дисс., Новосибирск, 1998, 18 с.

Рябчинский А. В., Стогниенко О. И. Свекловичный долгоносик-стеблеед в ЦЧР // Сахарная свекла, 2010, 3, с. 40-41.

Исмухамбетов Ж.Д. Свекловичный стеблеед // Защита растений, 1988, 4, с. 32-33.

Романова В.П. Вредные виды долгоносиков -стеблеедов (*Lixus* F) Северо - Кавказского края // Изв. Северо-Кавказской краевой станции защиты растений, 1928, 4, с. 235-242.

Темиржанова Ш.А., Исакулова Д.И. Свекловичный долгоносик-стеблеед // Сах. свекла: пр-во и перераб., 1988, 4, с. 39-40.

Шамина В.З., Батиров Р.В. Динамика фитосанитарного состояния посевов сахарной свеклы в Краснодарском крае // Агро - XXI, 1999, 1, с.18-19.

### PROMISING INSECTICIDES FOR THE SUGAR BEET BEETLE CONTROL

T.I.Vasilyeva, L.A.Burkova

Dominant and minor pest species succession in sugar beet agrobiocenoses is discussed. At present it is possible to include the sugar beet beetle *Lixus subtilis* to the list of dangerous pests of the culture in addition to Elateridae, *Bothynoderes* spp, *Phyllotreta* spp., *Cassida nebulosa* L., Aphididae and others. Results of an estimation of biological efficiency of three insecticides have been received for the *L. subtilis* control.

**Keywords:** *sugar beet, Lixus subtilis, biological effectiveness, neonicotinoide, insecticide.*

Т.И.Васильева, к.б.н., vizrspb@mail333.com  
Л.А.Буркова, к.б.н., lab@icrz.ru

УДК 582.736:576.8.06:631.427.2

## МИКРОМИЦЕТЫ В ПОЧВАХ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ПОД БОБОВЫМИ КУЛЬТУРАМИ

Ю.Н. Куркина, Нгуен Тхи Лан Хыонг

ВГАОУ ВПО НИУ "БелГУ", Белгород

Приведены результаты изучения биоразнообразия и численности мицелиальных грибов в образцах почв, отобранных из ценозов с бобами кормовыми, донником белым и клевером луговым. Анализ общей численности грибов (числа колониеобразующих единиц), частоты встречаемости и обилия видов позволил определить структуру микробиологического комплекса каждого образца почвы и отметить специфичность состава основных групп микромицетов у трех изученных видов бобовых.

Ключевые слова: мицелиальные грибы, почвенные микромицеты, бобы кормовые, донник белый, клевер луговой.

Современные модели биологического земледелия предполагают широкое использование в севооборотах бобовых культур, которые являются не только богатым источником растительного белка в продуктах питания человека и кормах животных, но одним из лучших предшественников, обогащающих почву азотом. Грибы обнаруживаются во всех типах почв, где играют важную роль как в формировании ее плодородия, самоочищения, так и в развитии фитотоксикоза и почвоугнетения (Санин и др., 2002; Соколов и др., 2010; Куркина, Нгуен, 2013). Накопление в агроценозе патогенов может стать основной проблемой при возделывании любой культуры.

В настоящее время для 3 тыс. видов культурных растений известно более 25 тыс. видов грибов-возбудителей фитомикозов (Терехова, 2007). Известно, что грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Trichoderma* - основные обитатели почвы (Свистова, Парамонов, 2011). Причем с санитарно-гигиенической точки зрения интерес представляют аллергенные и потенциально-патогенные грибы. Так, грибы родов *Aspergillus* и *Mucor* считаются сильны

ми аллергенами, а также возбудителями дерматитов и грибных заболеваний верхних дыхательных путей (Левитин, 2009).

Многие виды способны продуцировать микотоксины и накапливаться в почвах агроценозов при бессменном возделывании культур. Известно, что прижизненные корневые экссудаты растений, объем которых может составлять до 40% от общего объема продуктов фотосинтеза, способствуют изменению численности и состава почвенных микромицетов (Свистова, Парамонов, 2011).

Следует отметить, что данные о влиянии растений семейства Бобовые на структуру почвенных микокомплексов остаются очень малочисленными (Шляжене, 1984), а о видовом составе микромицетов под исследуемыми в этой работе культурами сведений в доступной нам литературе не обнаружено. Следовательно, проблема изучения почвенных комплексов микромицетов бобовых растений является актуальной. Целью исследования было изучение микромицетов в почвах под некоторыми бобовыми в Белгородской области.

### Матодика исследований

Исследовали почвенные образцы, собранные в 2012-2013 гг. на территории Белгородской области. Сбор образцов проводился с соблюдением общепринятых требований (Кураков, 2001). Пробы почвы отбирали в фазу бутонизации-начала цветения бобов кормовых (*Vicia faba* L.), донника белого (*Melilotus albus* Medik) и клевера лугового (*Trifolium pratense* L.) во второй декаде июня, когда корневая экссудация растений наибольшая (Свистова, Парамонов, 2011). Так как в исследовании представлены культуры, имеющие ценность как предшественники, почвенные пробы отбирали из-под растений 1-го и 2-го года вегетации.

Выделение почвенных грибов осуществляли методом почвенных разведений С.А.Ваксмана (1916), то есть получения суспензии из 10 г просеянной почвы в 90 мл стерильной воды с последующим глубинным посевом 1 мл суспензии, разведенной в 10, 100 и 1000 раз, в плотные питательные среды. Присутствие сахаролитических и пептонолитических грибов определяли в лабораторных условиях с использованием нескольких питательных сред, содержащих легкодоступные сахара (среда Чапека) и пептон (среда Сабуро, МПА) (Иванова и др., 2008). Инкубировали посеы при 23°C в течение 14 суток. Количественный учет колоний микромицетов проводили на 3, 5, 7, 10

и 14 сутки. Таксономическую принадлежность определяли по совокупности культурально-морфологических признаков с использованием определителей (Литвинов, 1967; Пидопличко, Милько, 1974). Для изучения микроморфологии выделенных грибов использовали световой микроскоп Микромед-2 и видеоокуляр DCM 510 SCOPE.

Характеристику структуры почвенных комплексов микромицетов в различных элементах экосистем проводили на основе показателей обилия и частоты встречаемости видов. С учетом величин пространственной и вре-

менной встречаемости видов в почвенных комплексах выявили типичные виды и дифференцировали их на доминантные (пространственная и временная встречаемость более 60%), частые (пространственная и временная встречаемость более 30%) и редкие (пространственная встречаемость менее 30%, а временная - более 30%). Случайными считали виды с пространственной и временной встречаемостью менее 30%.

Для определения сходства почвенных комплексов микромицетов использовали коэффициент Жаккара (Кураков, 2001).

### Результаты исследования

Из почвенных образцов, собранных под растениями семейства Бобовые в 2012-2013 гг., выделили и идентифицировали 10 видов из 5 родов, то есть разнообразие почвенной микобиоты у

сравнимых видов бобовых растений невелико.

Представленность (доля, рассчитанная по числу КОЕ на 1 г почвы) видов микромицетов в почвенном комплексе отражена на рисунке.

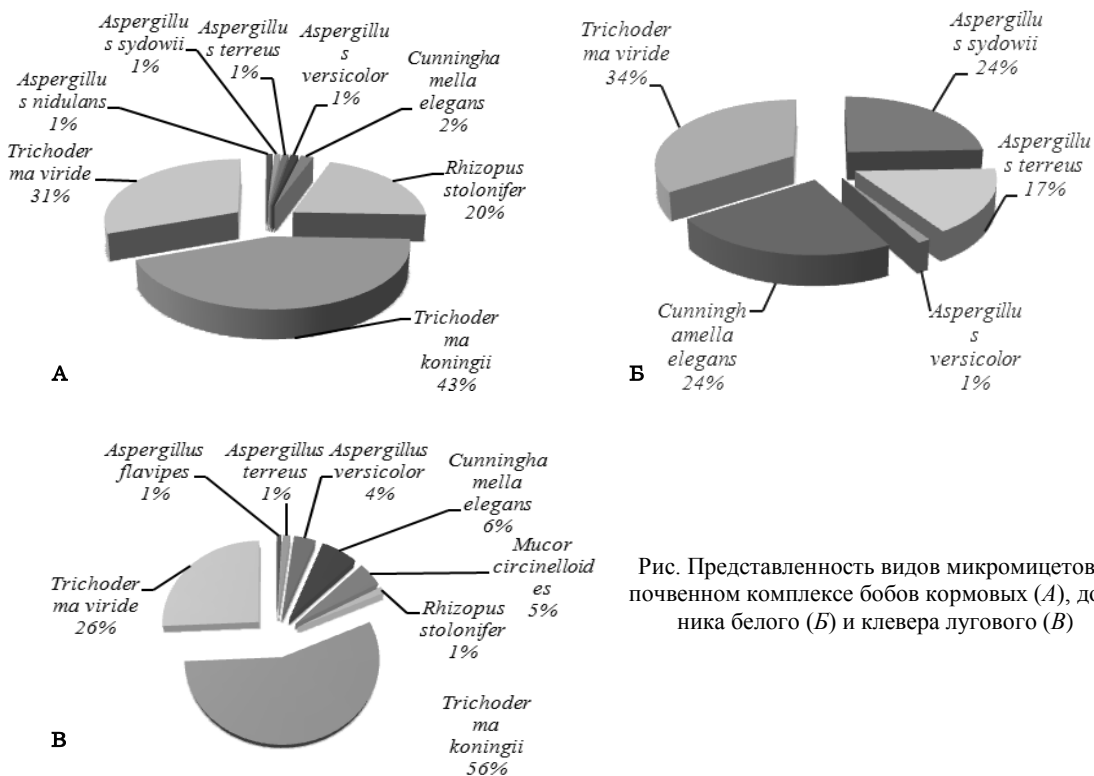


Рис. Представленность видов микромицетов в почвенном комплексе бобов кормовых (А), донника белого (Б) и клевера лугового (Б)

Анализ диаграмм показывает, что для выделенной почвенной микобиоты характерно преобладание по численности представителей рода *Trichoderma*, что согласуется с данными Д.Ю.Шляужене (1984), а по видовому разнообразию - *Aspergillus*. Так, в почвенном микокомплексе исследуемых растений преобладают грибы рода *Trichoderma*, причем только у донника белого этот род пред-

ставлен одним видом - *Trichoderma viride* Person ex Fries, а вид *Trichoderma koningii* Oudem не обнаружен. Доля грибов рода *Trichoderma* под клевером составляет 82%, под бобами - 74%, под донником - 34%.

Доля *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Lind var. *stolonifer* с 20% в микокомплексе кормовых бобов снижается до 1% в почве под кле-

вером, и этот гриб не встречается под донником, тогда как представленность гриба *Cunninghamella elegans* Lendn., наоборот, наибольшая в почве под донником (24%) и значительно меньше под клевером (6%) и бобами (2%).

Доля грибов рода *Aspergillus* в почвенном комплексе микромицетов бобов составляет 4%, клевера - 6%, а донника - 42%. В таблице представлена группировка видов микромицетов по значимости с учетом их пространственной и временной частоты встречаемости.

Таблица. Структура комплексов микромицетов в почвах под разными бобовыми культурами

Виды микромицетов	Значимость вида		
	бобы кормовые	донник белый	клевер луговой
<i>Aspergillus flavipes</i> (Bainier et Sartory) Thom et Church	-	-	случайный
<i>Aspergillus nidulans</i> (Eidam) Winters	случайный	-	-
<i>Aspergillus sydowii</i> (Bainier et Sartory) Thom et Church	случайный	частый	-
<i>Aspergillus terreus</i> Thom	случайный	редкий	случайный
<i>Aspergillus versicolor</i> (Vuillemin) Tiraboschi	редкий	случайный	редкий
<i>Cunninghamella elegans</i> Lendn.	случайный	доминирующий	доминирующий
<i>Mucor circinelloides</i> van Tieghem	-	-	случайный
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.: Fr.) Lind	частый	-	редкий
<i>Trichoderma koningii</i> Oudem	доминирующий	-	доминирующий
<i>Trichoderma viride</i> Person ex Fries	частый	частый	частый

*T. koningii* доминирует в почвенных комплексах бобов и клевера, тогда как *T. viride* является частым видом. Известно, что грибы рода *Trichoderma* антагонистичны фитопатогенным грибам, с чем, возможно, связано отсутствие (или их малое для обнаружения данными методами количество) фитопатогенных видов, например, грибов рода *Fusarium* (Садыкова, Громовых, 2011).

Другим доминирующим видом в почвенных комплексах под клевером и донником является гриб *C. elegans.*, который под бобами встречаются лишь в ранге случайного. Что касается частого под бобами и клевером гриба *Rhizopus stolonifer*, то он вообще не встречается под донником. Виды рода *Aspergillus* большей частью случайные или редкие.

Можно предположить, что некоторые медленно растущие редкие и случайные микромицеты могли остаться невыявленными при доминировании таких быстрорастущих на питательных средах видов как *Trichoderma* и *Cunninghamella*.

В целом комплекс почвенных микромицетов, специфический для микобиоты почв под кормовыми бобами и луговым клевером, представлен двумя доминирующими видами, а под донником - одним. Таким образом, для

комплекса почвенных микромицетов исследуемых бобовых определено по 4 типичных вида, что составляет 50% видового разнообразия микобиоты для бобов и клевера и 80% - для донника.

Анализ коэффициентов Жаккара показал, что наиболее сходны микокомплексы бобов с донником ( $K_j = 0.63$ ) и клевером ( $K_j = 0.60$ ), менее - донника с клевером ( $K_j = 0.44$ ), что, вероятно, может объясняться габитусом растений и мощностью корневой системы, количеством и качеством экссудатов.

Известно, что клетчатку в почве в основном разлагают целлюлозоразрушающие микромицеты из родов *Trichoderma* и *Aspergillus*. Результаты проведенных исследований показывают, что доля грибов этих родов в комплексе микромицетов почв клевера составляет 88%, бобов - 78%, донника - 76%. Можно предположить, что разложение клетчатки в почве под клевером происходит наиболее интенсивно.

Использование среды Чапека позволяет наиболее полно выявить структуру комплекса сапрофитных сахаролитических грибов, в т.ч. и микромицетов с гидролитическими ферментами, типичные виды которого могут служить надежной характеристикой почв и биогеоценозов. В группу сахаролитических грибов, по данным наших исследований, было отнесено

подавляющее большинство выделенных микромицетов, за исключением *M. circinelloides*. В группу пептонолитических грибов вместе с *M. circinelloides* вошли также *A. sydowii*, *A. terreus*, *C. elegans*, *T. viride*, *T. lignorum*. По данным литературы, вид *A. terreus* обладает также амилотической активностью (Иванова и др., 2008). Следовательно, в почвенном комплексе микромицетов бобовых преобладают деструкторы углеводосодержащих субстратов.

Таким образом, почвенный комплекс микромицетов бобовых представлен обычными

для многих типов почв видами грибов, среди которых преобладают деструкторы углеводосодержащих субстратов. Однако наблюдается видоспецифичность групп почвенных грибов под исследуемыми бобовыми растениями. Доминирование *T. koningii* в почвенных комплексах бобов и клевера и высокая частота вида *T. viride* могут определять низкую численность патогенных, например, фузариевых грибов, связанных преимущественно с растительными остатками, однако это может стать предметом отдельного рассмотрения.

#### Литература

Иванова А.Е., Суханова И.С., Марфенина О.Е. Функциональное разнообразие микроскопических грибов в городских почвах разного возраста формирования // Микология и фитопатология, 2008, 42, 5, с. 450-460.

Кураков А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем. М., Макс Пресс, 2001, 92 с.

Куркина Ю.Н., Нгуен Тхи Лан Хьонг. Устойчивость некоторых сортов кормовых бобов (*Vicia faba* L.) к фузариозу всходов // Вестник защиты растений, 2013, с. 67-69.

Левитин М.М. Фитопатогенные грибы и болезни человека // Защита и карантин растений, 2009, 9, с. 24-25.

Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Л., Наука, Ленингр. отд., 1967, 312 с.

Пидопличко Н.М., Милько А.А. Атлас мукоральных грибов. Киев, Наук. думка, 1974, 152 с.

Садыкова В.С., Громовых Т.И. Устойчивость возбудителей корневых гнилей ячменя к химическим и биологическим фунгицидам // Доклады РАСХН, 2011, 2, с. 20-23.

Санин С.С., Черкашин В.И., Назарова Л.Н., Е.А. Со-

колова, Ю.А. Стрижекозин, Т.З. Ибрагимов, Н.П. Неклеса. Фитосанитарная экспертиза зерновых культур (Болезни растений): Рекомендации // Под ред. С.С. Санина. М., Росинформагротек", 2002, 140 с.

Свистова И.Д., Парамонов А.Ю. Влияние лекарственных растений на микромицеты и биологическую активность почвы // Проблемы медицинской микологии, 2011, 13, 3, с. 50-53.

Соколов М.С., Дородных Ю.Л., Марченко А.И. Здоровая почва как необходимое условие жизни человека // Почвоведение, 2010, 7, с. 858-866.

Терехова В.А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем // Ин-т проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова РАН, Ин-т экологического почвоведения МГУ. М., Наука, 2007, 215 с.

Шляужене Д.Ю. Микромицеты в почвах, занятых бобовыми травами и кормовыми злаковыми культурами. // Ин-т ботаники АН Лит. ССР. Автореф. канд. дисс., Вильнюс, 1984, 23 с.

Waksman S.A. Soil fungi and their activities. // Soil Sci., 1916, 2, 1, p. 103-105.

## SOIL MICROMYCETES UNDER LEGUME PLANTS IN BELGOROD REGION

Yu.N.Kurkina, Nguyen Thi Lan Huong

The research results on biodiversity and number of the filamentous fungi from the soil samples associated with *Vicia faba*, *Melilotus albus* and *Trifolium pratense* are provided. The analysis of the total number of fungi (in colony-forming units), frequency of occurrence and species diversity has revealed the structure of fungal complex of each soil sample and specificity of micromycete groups for three legume species.

**Keywords:** filamentous fungi, soil micromycete, *Vicia faba*, *Melilotus albus*, *Trifolium pratense*.

Н.Ю.Куркина, к. с.-х. н., iu.kurkina@yandex.ru  
Нгуен Тхи Лан Хьонг, аспирант, lanhuong\_9586@mail.ru

УДК 633.16:632:631.445.52/.53

## УРОЖАЙНОСТЬ И ПОРАЖАЕМОСТЬ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ БОЛЕЗНЯМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ЗАСОЛЕННОСТИ ПОЧВЫ И МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ

Г.А. Новрузлу

Азербайджанский НИИ земледелия, Баку

Установлено, что при уровне засоления почвы 1.26% степень поражения ячменя сорта Джалилабад 19 мучнистой росой (*Blumeria graminis* (DC.) Speer f. sp. *hordei* Marchal) и сетчатым гельминтоспориозом (*Rugophora teres* Drechsler) увеличилась в 4 раза по сравнению с контролем (без засоления). На высоком фоне минерального питания ( $N_{120}P_{90}K_{90}$ ) отмечалось резкое усиление поражаемости сортов: мучнистой росой в 10 раз у с. Джалилабад 19, сетчатым гельминтоспориозом и бурой ржавчиной в 4 раза у с. Карабах 23. Отзывчивость сортов на удобрения варьировала в пределах 17.5-9.5 ц/га при урожайности на неудобренном контроле 37.1-44.3 ц/га. Снижение урожайности у выносливого к засолению сорта Карабах 22 составило 4.2 ц/га, невыносливого Карабах 23-15.2 ц/га. В условиях аридизации климата и реального увеличения площади засоленных земель актуальность отбора сортов по выносливости к засолению еще более возрастает, в т.ч. в связи с влиянием засоления на проявление устойчивости к болезням.

*Ключевые слова:* сорта ячменя, солеустойчивость, продуктивность стеблей, засоленность почвы, минеральное питание, урожайность.

Основная зернофуражная культура в республике - ячмень. Его посевы составляют более 300 тыс. га, после пшеницы занимают второе место и постоянно расширяются, особенно в районах со значительным засолением почвы (Новрузлу, 1993).

Засоленные почвы в республике занимают 907.2 тыс. га, из них 292.8 тыс. га поливные. Из 907.2 тыс. га 727.0 тыс. га характеризуются слабой и средней степенью засоления, - количество солей в сухом остатке составляет 0.25-1.0% (Азизов, 2004). Зерновые, в т.ч. более 120 тыс. га ячменя (40%), возделываются на засоленных почвах, в связи с чем ежегодный недобор урожая достигает значительных величин (Новрузлу, 2011). Получение высоких и стабильных урожаев во многом зависит от наличия сортов, сочетающих потенциал урожайности с устойчивостью к неблагоприят-

ным факторам (Вавилов, 1935). По данным FAO и ряда исследователей (Мусаев, 2005; Тамразов и др., 2012), значительным фактором снижения урожайности зерновых культур является поражение растений возбудителями грибных и вирусных заболеваний. При этом недоборы урожая достигают 30-35%. Проведенные нами многолетние исследования показали, что засоление почвы не только ухудшает продуктивность ячменя, но и снижает устойчивость к заражению различными болезнями, такими как гельминтоспориозы, мучнистая роса, ржавчина и др. Отмечено, что несбалансированное питание также способствует поражению ячменя болезнями. Определение реакций сортов ячменя на фоны минерального питания и уровни засоления почвы являлось целью данной работы.

### Методика исследований

Исследования проводили в 2009-2011 гг. в условиях Ширванской зоны Азербайджана на 5 сортах ячменя: Карабах 22 (выносливый к засолению), Карабах 7, Карабах 23, Джалилабад 19 и Бахарлы (среднесолевыносливый). Содержание гумуса в пахотном слое 1.4-1.8%. Количество солей (NaCl,  $Na_2SO_4$  и др.) в сухом остатке колеблется от 0.52 до 1.26%. Определение ионов Cl проводили по Морю, а  $SO_4$  - по его способности образовывать с ионом Ba нерастворимый осадок сернистого бария ( $BaSO_4$ ). По весу осадка судили о количестве сульфат-ионов. Осаждали их хлористым барием (Радова и др., 1971). Для оценки степени засоленности почвы была использована шкала В.А.Ковда (1960) и Г.З.Азизова (2002).

Фенологические наблюдения и оцен-

ку устойчивости сортов к болезням проводили по методическим указаниям (Международный классификатор СЭВ рода *Hordeum* L. (подрод *Hordeum*), 1983 и Мусаев и др., 2008).

Работу проводили в полевых условиях на естественном инфекционном фоне. Выносливость сортов к засолению и отзывчивость на уровень минерального питания изучали в отдельных опытах. Оценку устойчивости сортов к бурой ржавчине, сетчатому гельминтоспориозу и септориозу проводили в период колошения и молочной спелости, к мучнистой росе - в фазу выхода в трубку, когда болезнь имела наибольшее развитие. Иногда оценка дополнялась в фазу колошения. При оценке сортов по устойчивости к болезням применяли шкалы оценки степени поражения листьев, %.

## Результаты исследований

Определение реакций сортов на уровень засоления (табл.) выявило существенное снижение урожайности у средневывосливых к засолению сортов Карабах

7, Карабах 23, Джалилабад 19 и Бахарлы (от 9.1 до 17.9 ц/га) по сравнению с выносливым к засолению сортом Карабах 22 (4.2 ц/га).

Таблица. Урожайность ячменя и поражаемость болезнями в зависимости от уровня засоления почвы и доз минерального питания (2009-2011 гг.)

Сорта	Урожайность, ц/га	Продуктивная кустистость шт./м <sup>2</sup>	Засоленность почвы, %/дозы NPK	Степень поражения листьев, %
Карабах 7	37.3/41.5	496/503	Контроль 1/Контроль 2	М.р. 3.1/до 3.33 М.р. до 8.7/до 17.6
	35.1/49.3	412/538	0.52/ N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	
	29.4/60.0	346/619	1.26/ N <sub>120</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	
Карабах 22	48.7/44.0	591/586	Контроль 1/Контроль 2	Б.р. до 2.3/до 3.8; С.г. до 1.8/до 7.5
	46.2/47.3	576/661	0.52/ N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	
	44.5/60.7	527/708	1.26/ N <sub>120</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	
Карабах 23	45.0/37.1	518/524	Контроль 1/Контроль 2	С.г. до 7.5/до 5.2; Септ. до 1.3 Б.рж. до 3.8/до 3.0 С.г. до 12.5/до 22.3; Б.р. 8.2/14.7
	34.5/44.3	465/562	0.52/ N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	
	29.8/58.5	353/562	1.26/ N <sub>120</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	
Джалилабад 19	48.1/42.5	614/602	Контроль 1/Контроль 2	М.р. до 7.8/до 7.0; С.г. до 3.6/до 3.0 М.р. 18.4/до 12.5; С.г. до 5.5/до 4.5 М.р. до 31.4/до 68.4; С.г. до 16.1/до 12.1
	42.4/48.3	503/659	0.52/ N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	
	33.8/63	449/782	1.26/ N <sub>120</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	
Бахарлы	31.7/37.3	436/427	Контроль 1/Контроль 2	Септ. до 2.3; Б.р. до 4.9 Септ. до 8.8/до 15.4; Б.р. до 10.3/до 11.6
	24.3/41.8	338/468	0.52/ N <sub>60</sub> P <sub>60</sub> K <sub>60</sub>	
	22.6/54.5	327/516	1.26/ N <sub>120</sub> P <sub>90</sub> K <sub>90</sub>	
НСР <sub>05</sub>	3.2/2.15	1.8/37.9		11.4/9.7

Примеч.: в числителе даны результаты оценки при разной степени засоления почвы, в знаменателе - при разной обеспеченности NPK; Б.р.- бурая ржавчина, С.г.- сетчатый гельминтоспориоз, М.р.- мучнистая роса, Септ.- септориоз, контроль 1 - без засоления, контроль 2 - без внесения удобрений.

Трехлетнее изучение влияния засоления почвы на урожайность позволило выявить достоверные различия по выносливости сортов ячменя к засолению: уменьшение урожайности от 2.2 до 10.5 ц/га при слабом засолении (0.52% солей) и от 4.2 до 15.2 ц/га при среднем уровне засоления (1.26%), причем минимальное снижение урожайности характерно для выносливого сорта Карабах 22 - 2.5 и 4.2 ц/га. Это отчетливо прослеживается по степени уменьшения продуктивной кустистости (11% и 32% у сортов Карабах 22 и Карабах 23 соответственно).

Применение высоких доз удобрения N<sub>120</sub>P<sub>90</sub>K<sub>90</sub> привело к формированию гораздо большего количества продуктивных стеблей (на 16.2-29.9% в зависимости от сорта), а также увеличению распространенности болезней (в основном мучнистой росы), что связано с

улучшением условий для развития патогена при увеличении влажности под пологом листьев. Так, при увеличении дозы NPK и недостаточно высокой устойчивости к мучнистой росе, например у сорта Джалилабад 19, сильно возрастает пораженность (до 68%) мучнистой росой. Наибольшая пораженность этого сорта (31.4%) отмечена и на фоне засоления, при значительно снизившейся продуктивной кустистости. В условиях невысокого развития сетчатого гельминтоспориоза, ржавчины и септориоза наибольшую значимость в годы исследований имела мучнистая роса, поражаемость которой на естественном фоне наиболее характерна для сорта Джалилабад 19.

Таким образом, при низком содержании в почве гумуса (1.4-1.8%) реакции сортов в целом сходны и наиболее высока их отзывчивость на фон N<sub>120</sub>P<sub>90</sub>K<sub>90</sub>, на котором прибавки



возрастают в 2.4 раза по сравнению с  $N_{60}P_{60}K_{60}$ . В пределах изученной группы выделяется сорт Карабах 22, прибавка урожайности у которого возросла в 4 раза, тогда как у сортов Карабах 7, Карабах 23, Джалилабад 19 и Бахарлы - в 1.3, 2.0, 2.5, 2.8 раза соответственно.

Проведенный пофакторный анализ позволил выявить как сходные, так и дифференциальные реакции сортов на уровень засоления и минерального питания, достоверные для обоих уровней засоления и минерального питания, позволил выявить сорт Карабах 22, выносливый к засолению, отзывчивый на высокий фон минерального питания и слабо

поражающийся возбудителями болезней листьев.

С учетом полученных данных и продолжающейся аридизации климата первичный отбор перспективных для районирования в зонах засоления сортов ячменя должен проводиться на фоне умеренного засоления - фактора ежегодно и сильно влияющего на урожайность. Выделившиеся на фоне засоления сорта целесообразно оценивать по реакции на фон минерального питания и устойчивость к наиболее распространенным болезням. Значительный интерес представляет оценка результатов взаимодействий указанных факторов на продуктивность ячменя.

#### Литература

Азизов Г.З. Классификация засоленных земель Азербайджана по степени засоленности и типов почв. Баку, 2002, с. 30.

Азизов Г.З., Мустафаев М.Г., Абдуллаев А.М. Изучение солеустойчивости различных сортов злаков в условиях Ширванской низменности // Аграрная наука Азербайджана. Баку, 2004, 4-6, с. 59-64 (азерб.).

Вавилов Н.И. Учение об иммунитете растений // В кн.: Теоретические основы селекции растений. М.-Л., 1935 а, Т. 1, с. 893-990.

Ковда В.А. и др. Классификация почв по степени и качеству засоления в связи с солеустойчивостью растений // Ботанический журнал, 1960, XIV, М.-Л., с. 7.

Международный классификатор СЭВ рода *Hordeum* L. (подрод *Hordeum*). Л., 1983, 52 с.

Мусаев А.Д., Бабаев М.А. Оценка местных сортов ячменя как исходного материала для селекции на устойчивость к основным заболеваниям в условиях Карабахской низменности // Сб. научн. тр. Аз НИИЗ, том XXI, Ба-

ку, 2005, с. 48-53.

Мусаев А.Д., Гусейнов Г.С., Мамедов З.А. Методические указания по проведению полевых селекционных-опытов зерновых злаковых культур. Баку, 2008, 88 с. (азерб.).

Новрузлу Г.А. Солеустойчивые образцы ячменя как исходный материал для селекции в условиях Ширванской зоны Азербайджана // Автореф. канд. дисс. Баку, 1993, 21 с.

Новрузлу Г.А. Некоторые итоги изучения коллекционного материала ячменя различного происхождения в условиях Азербайджана по соле- и болезнеустойчивости // International Conference "Diversity, characterization of plant genetic resources for enhanced resilience to climate change" ABSTRACTS. Baku, Azerbaijan. Oktober 3-4, 2011, p. 184-185.

Радова А.С., Пустовой И.В., Корольков А.В. Практикум по агрохимии. М., Колос, 1971, 335 с.

Тамразов Х.Ч., Ахмедов С.А., Ибрагимов Е.Р., Керимова Ш.Р. Распространение и развитие болезни ячменя в Азербайджане // Аграрная наука Азербайджана, Баку, 2012, 2, 91-92 (на азерб.).

## ASSESSMENT OF RESISTANCE OF BARLEY VARIETIES TO DISEASES DEPENDING ON SOIL SALINIZATION AND MINERAL NUTRITION

G.A.Novruzlu

The research results have revealed that disease distribution was 1.8%-31.4% higher in the experiments carried out in soils with 1.26% salinization than that in control experiment (without soil salinization). High mineral nutrition ( $N_{120}P_{120}K_{90}$ ) caused emergence of numerous plant stems comparing with control experiment ( $N_0P_0K_0$ ). This has resulted in increasing spread of diseases like powdery mildew, helminthosporiosis, brown rust and septoriosiis by 3.8-68.4% in the varieties Garabag 7, Garabag 22, Garabag 23, Jalilabad 19 and Baharly.

**Keywords:** *barley, grade, salt tolerance, productive stalk, salinity, inorganic nutrition, yield.*

Г.А.Новрузлу, к.с.-х.н., novruzlu\_garib@mail.ru

УДК 632.913:631.427(571.11)

## ФИТОСАНИТАРНЫЙ МОНИТОРИНГ ПОЧВ АГРОЛАНДШАФТОВ КУРГАНСКОЙ ОБЛАСТИ

**В.В. Евсеев**

*Курганский государственный университет*

Обсуждаются вопросы организации фитосанитарного мониторинга почв. Представлены результаты мониторинговых исследований биодинамики популяций возбудителей корневых гнилей и антагонистической сапротрофной почвенной микрофлоры в агроландшафтах Курганской области. Намечен круг перспективных направлений для совершенствования системы фитосанитарного мониторинга региональных почв.

*Ключевые слова:* фитосанитарный мониторинг, корневые гнили, порог вредоносности, антагонистический потенциал почв.

Корневые гнили относятся к числу наиболее распространенных заболеваний хлебных злаков на территории Урала, Западной Сибири и Казахстана. Развитие этой группы болезней в Зауралье носит характер медленно нарастающей эпифитотии.

Сельскохозяйственное использование почв Зауралья коренным образом меняет их ключевые свойства, в том числе уровень биогенности и антагонистического потенциала. Уже в 1960-х гг. в почвах Курганской области сформировались многочисленные, динамично развивающиеся агрессивные популяции возбудителей обыкновенной корневой и фузариозной гнилей.

Процессы ухудшения фитосанитарной обстановки в региональных почвах связаны с возрастающей антропогенной нагрузкой, ведущей к нарушениям микробиологических режимов трансформации углерод- и азотсодержащих соединений почвы, формированию нетипичной динамики основных физиологических групп микроорганизмов, дегумификации почв (Евсеев, 2007; Плотников, Евсеев, 2013).

В связи с этим работы, направленные на организацию фитосанитарного мониторинга реги-

ональных почв и выяснение специфики биодинамики популяций возбудителей корневых гнилей в современных агроландшафтах Курганской области, отличаются высокой актуальностью, так как позволяют дать надежную оценку текущего фитосанитарного состояния почв, обоснование приемов контроля фитосанитарной ситуации, регулирования плодородия зауральских черноземов.

Актуальность поднимаемых в статье вопросов неизмеримо возрастает еще и с учетом того, что сегодня на территории не только Курганской области, но и всего Уральского региона никто проблемой организации фитосанитарного мониторинга почв фактически не занимается, высококвалифицированных почвенных микологов, микробиологов, почвоведов не хватает, специалисты региональных филиалов Россельхозцентра с трудом успевают отслеживать ситуацию лишь по важнейшим популяциям вредителей (саранчовые, вредная черепашка, трипс и др.) и болезней (ржавчинные, головневые, мучнистая роса, септориоз). В таких условиях контроль за почвообитающими фитопатогенами приобретает особую значимость.

### Методика исследований

Мониторинг фитосанитарного состояния почв проводили на участках, единообразных (в пределах одного поля севооборота) по сельскохозяйственной деятельности, уровням продуктивности сельскохозяйственного производства. Точки отбора равномерно размещали по диагоналям участка. В рамках одного севооборота мониторинг вели на всех полях согласно ротационной таблице. Образцы почв отбирали в стерильные пакеты из ватманской бумаги лопаткой, почвенным буром и шпательем.

В условиях лаборатории определяли влажность, механический состав почвы, водопрочность структурных агрегатов по стандартной методике.

При проведении микробиологических анализов ис-

следовали средней образец почвы, который составляли смешиванием 5-7 индивидуальных проб массой по 100-200 г. Во время отбора образцов рабочие поверхности инструмента стерилизовали прокаливанием их рабочей поверхности непосредственно в поле.

Основные эколого-трофические группы микроорганизмов учитывали методом разведений почвенной суспензии с последующим ее высевом на плотные или жидкие селективные питательные среды: на МПА (РПА) - для учета бактерий, усваивающих органический азот; на КАА (крахмалоаммиачный агар) - для бактерий и актиномицетов, усваивающих минеральные формы азота; на ГА (голландный агар) - для учета бактерий-олиготрофов (типич-

ные почвенные микроорганизмы).

Для оценки запасов конидий возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков использовали метод флотации (Чулкина и др., 2000).

Определение антибиотического (антагонистического) потенциала почвы проводили на конидиях возбудителя обыкновенной корневой гнили, скорость прорастания которых зависит от присутствия в почве антибиотических веществ. Культуру патогена выращивали на картофельно-декстрозном агаре, подготавливали суспензию спор и смешивали ее с 1% жидким водным агаром при температуре не выше 50°C. В агар погружали чистые, стерилизованные спиртовым факелом предметные стекла. Удерживая стекла в вертикальном положении, давали стечь избытку агара. После застывания агара стекла помещали в испытываемую почву, стараясь не повредить агаровую пленку. На 1, 3 и 7 день наблюдали прорастание спор в пленке. Результаты наблюдений сравнивали со скоростью

прорастания спор в контрольной почве, либо в чашке Петри, не содержащей почвы. О присутствии в почве антибиотиков (и активности их продуцентов - почвенных актиномицетов) судили по аномалиям роста гиф патогена (Сэги, 1983).

Популяционную структуру почвенных фитопатогенных микромицетов и ее изменений под влиянием определенных факторов окружающей среды или агротехнологий (приемов) исследовали на генетически маркированных по устойчивости к стрептомицину популяциях. Оценку длительности выживания гриба и уровня жизнеспособности пропагул изучали в модельных экспериментах с искусственно интродуцированной в почву популяцией возбудителя корневой гнили злаков. Запасы конидий гриба в почве выявляли традиционным методом флотации, а наблюдения за динамикой численности и состоянием мицелиальных структур гриба проводили с помощью предложенного нами способа количественного анализа антибиотикоустойчивого фитопатогенного гриба (Евсеев, 2004).

### Результаты исследований

Для наблюдений за динамикой популяции возбудителя обыкновенной корневой гнили злаков - *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. (телеоморфа: *Cochliobolus sativus* (Ito & Kuribayashi) Drechs. ex Dastur) в природной обстановке была выделена площадка под паром в пойме реки Тобол, где никогда не возделывались зерновые. Почва лугово-черноземная, окультуренная.

Предварительно маркированный на устойчивость к высокой концентрации стрептомицина штамм *B. sorokiniana* в виде споровой суспензии вносили в почву площадки на глубину 10 см с помощью пульверизатора (по 50 мл суспензии на 1 бороздку; титр суспензии составил  $1.1 \cdot 10^6$  пропагул/мл). В день интродукции, а затем на 10, 20 сутки были отобраны пробы почвы и проведено определение численности пропагул объекта и уровня жизнеспособности мицелиальных структур (конидий, фрагментов гиф). Влажность почвы в слое 0-20 см - 18.2% (около - 4 бар), наименьшая влагоемкость 25.1%.

Только что интродуцированная в почву популяция *B. sorokiniana* была представлена преимущественно жизнеспособными пропагулами. Доля конидий и фрагментов гиф, способных сформировать нормальные мицелиальные ростки, составила в среднем 77%. Основу популяции составляли конидии (90%), причем большая часть спор была жизнеспособна (83%). Доля фрагментов мицелия невелика - всего 10%, и только 26% гиф прорастали мицелиальным ростком. В целом доля нежизнеспособных пропагул в популяции гриба не превышала

26%, в среднем 23%.

Численность популяции *B. sorokiniana* сразу после интродукции в почву достигала 3.7 тыс. КОЕ на 10 г почвы. Через 10 суток после постановки эксперимента (4 июня) численность гриба увеличилась в 1.5 раза (5.4 тыс. клеток/10 г почвы), а еще через 10 суток (14 июня) продолжала удерживаться на том же уровне (5.3 тыс. КОЕ/10 г) несмотря на жесткие гидротермические условия вегетационного периода.

Май и июнь 2004 г. отличались острой засухой. Влажность почвы находилась на уровне влажности устойчивого завядания растений - 10.2%. Структура популяции гриба через 20 суток после интродукции в почву существенно изменилась: доля жизнеспособных пропагул возрасла до 88%, доля живых конидий - до 92%, а гифальных структур снижалась до 6%. Таким образом, жизнеспособность конидий гриба даже в условиях острого дефицита влаги в почве сохранилась на высоком уровне.

Полученные данные согласуются с имеющимися в литературе (Голощапов, 1970, 2002). Есть сведения, что возбудитель корневой гнили прекрасно переносит полную потерю влаги при продолжительном высушивании, даже в течение трех лет, после чего легко реактивируется и обильно спороносит (Голощапов, 1983).

Учет численности пропагул *B. sorokiniana* и оценка их жизнеспособности показали, что популяция возбудителя корневой гнили злаков

в нестерильной почве способна стабилизироваться на ненулевом уровне численности, причем стабилизация носит динамический характер, так как гибель части популяции компенсируется процессами размножения.

Состояние популяции гриба зависит от влажности почвы. При ее понижении вплоть до влажности устойчивого завядания растений популяция гриба не погибает, число жизнеспособных мицелиальных структур растет. При увеличении влажности почвы, наоборот, число жизнеспособных спор уменьшается, что косвенно указывает на активацию антагонистов возбудителя корневой гнили (актиномицетов, миколитических бактерий и др.). Коэффициент корреляции между влажностью почвы и долей жизнеспособных спор ( $Y$ ) в популяции возбудителя корневой гнили составил  $r = -0.88$ . Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = 115.74 - 2.58x.$$

Увеличение влажности почвы на один процент приводит к снижению количества жизнеспособных спор возбудителя на 2.6%. Корреляционная зависимость сильная ( $r^2 = 0.77$ ) и достоверная на 95% уровне безошибочного суждения.

Дополнительно была проведена оценка численности конидий природной популяции гриба и популяций его антагонистов в пахотном слое в условиях различной влажности почвы.

В первую очередь нас интересовало поведение популяции возбудителя обыкновенной корневой гнили и ассоциаций почвенных бактерий в условиях севооборота и разных способов обработки почвы. При проведении фитосанитарного мониторинга почвы, отобранной с полей, на которых пшеница размещалась по разным предшественникам (пар, пшеница, горох), конидии *B. sorokiniana* были обнаружены на всех полях. На участке, занятом в предыдущем году горохом, их оказалось существенно меньше (28 конидий/г воздушно-сухой почвы).

Количество конидий по пару составило 49, а по пшенице 110 шт./г почвы. Значительно возрасла заселенность почвы конидиями в

бессменных посевах пшеницы, а также при поверхностной обработке почвы по сравнению со вспашкой. Численность конидий варьировала в зависимости от уровня влажности почвы и гидротермических условий года наблюдения и агротехнологий выращивания пшеницы.

Там, где пшеница размещалась по пару и по гороху, в почве к моменту уборки еще сохранялись значительные запасы влаги, что приводило к длительному и эффективному функционированию антагонистической микрофлоры и существенному освобождению почвы от спор возбудителя корневой гнили.

Корреляционный анализ связи численности основных эколого-трофических групп бактерий с показателем влажности верхнего слоя почвы (0-20 см) выявил тесную зависимость:

аммонификаторы	$r = 0.66 \pm 0.16;$	$t_{r\phi} = 4.12$
олиготрофы	$r = 0.79 \pm 0.13;$	$t_{r\phi} = 6.11$
актиномицеты	$r = 0.39 \pm 0.20;$	$t_{r\phi} = 1.96$
олигонитрофилы	$r = 0.70 \pm 0.15;$	$t_{r\phi} = 4.61$

Крупнейшая физиологическая группа почвенных микроорганизмов - это группа аммонификаторов, участвующих в минерализации белоксодержащих субстратов (органических остатков растительного, животного и микробного происхождения), а также карбамида, хитина. Почвенная аммонифицирующая микрофлора заслуживает особого внимания специалистов по защите растений как группировка прокаринот, обладающая выраженными антагонистическими свойствами в отношении фитопатогенных грибов, например, возбудителей корневых гнилей (Мелентьев, 2007).

В целинных и пахотных черноземах Южного Зауралья при посеве почвенной суспензии на МПА выявляется 4.5-5.7, а в отдельные годы - до 22-25 млн клеток аммонификаторов в 1 г почвы. Корреляционная связь между влажностью почвы и численностью этой группы микроорганизмов ( $Y$ ) средней силы. Уравнение регрессии имеет вид:

$$y = -2.27 + 0.83x.$$

Антагонистами в отношении возбудителя обыкновенной корневой гнили выступают и актиномицеты. Они неплохо переносят высы-

хание почвы и не теряют активности в условиях низкой влажности. Динамика их численности существенно зависит от количества и химического состава органических остатков и гумуса. Численность актиномицетов в черноземных почвах области достигает 44.4 млн КОЕ/г почвы.

Наблюдения за влиянием влажности почвы на жизнедеятельность популяции возбудителя обыкновенной корневой гнили и почвенных бактерий показали, что фитопатоген прекрасно адаптирован к условиям почвенной засухи, при влажности почвы, близкой к влажности устойчивого завядания растений (5.5-13.5%) он практически не имеет конкурентов среди почвенных бактерий-антагонистов (за исключением актиномицетов). Но это вовсе не означает, что популяцию возбудителя корневой гнили нельзя успешно контролировать с помощью сапротрофной микрофлоры. Любой агротехнический прием, направленный на поддержание влажности верхнего слоя почвы в пределах 20-25%, будет способствовать активации антагонистов и существенному очищению почвы от пропагул патогена.

После завершения вегетации растений возбудители корневых гнилей с растительными остатками попадают в почву, где могут существовать не только в виде покоящихся структур (хламидоспоры, конидии), но и вегетативного мицелия, между гифами которого и почвенной микрофлорой складываются определенные взаимодействия. Для оценки характера этих взаимодействий в почву (чернозем выщелоченный) вводили предметные стекла с нанесенными на них конидиями возбудителя корневой гнили. Через 20 суток стекла извлекали из почвы и микроскопировали в условиях фазового контраста. Было просмотрено 300 полей зрения, в каждом из которых регистрировали наличие мицелия возбудителя корневой гнили, присутствие или отсутствие клеток (спор) бактерий, гиф актиномицетов. Результаты наблюдений за развитием на стеклах:

Мицелий <i>Bipolaris</i> <i>sorokiniana</i>	Микроколонии почвенных бактерий и актиномицетов	
	есть	нет
Есть	a = 87	b = 92
Нет	c = 11	d = 110

Опираясь на табличные данные, был рас-

считан тетракорический показатель ассоциативной связи и определена его значимость:

$$r_4 = \frac{|ad - bc| - n/2}{\sqrt{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}}, \chi^2 = n r_4^2$$

Величина коэффициента ассоциативности  $r_4$  может принимать значения от -1 до +1 (Кожевин, 1989). В нашем случае  $r_4 = 0.406$  и  $\chi^2 = 49.45$ ,  $\chi^2_{0.999} = 10.83$ . Таким образом, между мицелием возбудителя корневой гнили и микроколониями почвенных бактерий и актиномицетов существует достоверная положительная связь средней силы. Наблюдения показали, что в присутствии актиномицетов и бактерий гифы грибов отмирают и разрушаются. Очевидно, многие представители почвенной микрофлоры обладают выраженной миколитической активностью и являются антагонистами по отношению к возбудителям корневых гнилей (рис.).

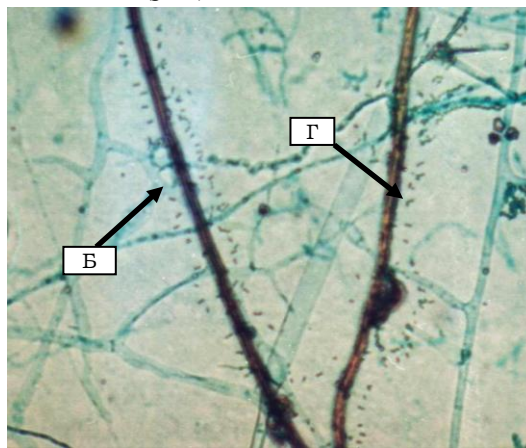


Рис. Клетки бактерий (Б) концентрируются возле гиф (Г) возбудителя обыкновенной корневой гнили (Об.40 $\times$ , ок 12 $\times$ .)

Взаимодействие возбудителя обыкновенной корневой гнили с миколитическими бактериями было изучено в лабораторно-полевом эксперименте. Образцы почвы для определения количества миколитических бактерий и их активности отбирали по вариантам полевого опыта из слоя почвы 0-10 см в 5 сроков: 27 апреля (на целине и пашне, до всходов пшеницы), 14 мая (по всем вариантам опыта, растения в фазе кущения), 6 июня (в варианте "Интенсивная технология" 28 мая проведена

внекорневая подкормка пшеницы мочевиной - N<sub>15</sub>), 4 июля (в варианте "Интенсивная технология" растения обработаны фунгицидом в сочетании с мочевиной), 25 июля (растения в фазе тестообразной спелости зерна)

Учет численности миколитических бактерий до вегетации растений показал, что активность этих микроорганизмов на пашне заметно выше по сравнению с целинным участком.

По результатам наблюдений была составлена числовая характеристика для каждого варианта и по таблице Мак-Креди определено вероятное число клеток миколитических бактерий в 1 г почвы. В целинной почве численность бактерий достигала 25 тыс. клеток/г почвы, в почве пашни - 60 тыс. клеток/г.

Во второй срок анализа в вариантах "Целина" и "Экстенсивная технология" численность миколитических бактерий была на уровне 25 тыс. кл./г почвы. В варианте "Интенсивная технология" их количество составило 95 тыс. кл./г, а в варианте "Обычная технология" - 45 тыс. кл./г почвы.

В третий срок анализа почва находилась в переувлажненном состоянии. Ухудшение

аэрации верхнего горизонта привело к существенному снижению численности миколитических бактерий - до 4 тыс. кл./г почвы. На довольно низком уровне их численность оставалась и в последующие сроки анализа. Таким образом, весной активность миколитических бактерий заметно возрастает при распашке почвы. В условиях переувлажнения или переувлажнения верхнего слоя почвы возможна сильная флуктуация численности клеток микроорганизмов. В таких ситуациях антагонистический потенциал почвы в отношении возбудителей корневых гнилей, по-видимому, поддерживается за счет других групп бактериального и грибного населения.

В результате проведенных в Курганской области мониторинговых исследований впервые получена информация о фитосанитарном состоянии почв агроценозов в условиях современных агротехнологий возделывания сельскохозяйственных культур; охарактеризована динамика почвенных микроорганизмов, оказывающих как отрицательное, так и положительное влияние на плодородие региональных почв, продуктивность агроценозов (Евсеев, 2009, Плотников, Евсеев, 2013).

### **Заключение**

Первый опыт организации и проведения фитосанитарного мониторинга почв агроландшафтов Курганской области позволил определить цель, задачи, программу подобных исследований. По нашему мнению, целью фитосанитарного мониторинга почв должны стать диагностика, оценка численности и прогноз развития популяций возбудителей корневых гнилей и их антагонистов, картирование фитосанитарной ситуации и практическое использование фитопатологических почвенных картограмм (ФПК) для научно обоснованного управления фитосанитарным состоянием и плодородием почв.

Среди основных задач фитосанитарного мониторинга почв могут быть названы (Чулкина и др., 2000):

- определение фитосанитарного состояния почв по возбудителям обыкновенной корневой и фузариозной гнили (объектами мониторинга могут быть и другие группы почвенных фитопатогенов);
- установление видового состава возбудителей

корневых гнилей сельскохозяйственных культур в почвах региона исследования;

- оценка численности антагонистической по отношению к возбудителям корневых гнилей почвенной микрофлоры, уровня микробиологической активности почв;
- создание по результатам мониторинговых исследований ФПК;
- разработка рекомендации по оздоровлению почв от возбудителей корневых инфекций, активизации сапротрофных биокомплексов почвы для повышения эффективного плодородия и стабилизации фитосанитарной ситуации.

Мониторинговыми наблюдениями следует охватить не только популяции почвенных фитопатогенных грибов, но и важнейших эколого-трофических групп сапротрофных микроорганизмов, способных объективно отражать уровень плодородия почвы и изменение ее биологического состояния под воздействием комплекса агротехнических приемов и систем земледелия. Хорошо известно, что только высокий уровень биомассы микроорганиз-

мов, большое видовое и функциональное разнообразие почвенной биоты способно обеспечить интенсивный уровень процессов самоочищения почвы от фитопатогенов.

Мониторинг фитосанитарного состояния почв рассматривается нами как подсистема экологического мониторинга второго уровня, то есть геосистемного мониторинга. Фитосанитарный мониторинг должен иметь свою

программу, в которой необходимо определить объекты мониторинга, принципы организации наблюдений, контролируемые параметры и методы их определения. Реализацией программы наблюдений должны заниматься региональные центры фитосанитарного мониторинга почв агроландшафтов, имеющие статус федерального государственного учреждения.

#### Литература

Голощавов А.П. Гельминтоспориозная корневая гниль яровой пшеницы и меры борьбы с ней в Курганской области // *Корневые гнили хлебных злаков и меры борьбы с ними*. М., Колос, 1970, с. 26-29.

Голощавов А.П. Методические указания по учету обыкновенной корневой гнили пшеницы с учетом параметров адаптивности в условиях Курганской области. Курган, 1983, 16 с.

Голощавов А.П. Методы селекции пшеницы на иммунитет. Курган, ГИПП "Зауралье", 2002, 112 с.

Евсеев В.В. Способ количественного анализа антибиотикоустойчивого фитопатогенного гриба в почве. Патент 2233887 РФ, МПК 7 C2 7 C12 Q 1/06// (C12 Q 1/06, C12 R 1:645); опубл. 10.08.2004. Бюлл. 22, 4 с.

Евсеев В.В. Микробиологическая активность целинных, старопахотных и окультуренных черноземов Курганской области // *Сиб. вестн. с.-х. науки*, 2007, 3 (171), с. 5-10.

Евсеев В.В. Микробные сообщества и микробиологическая

активность почв основных биогеоценозов Курганской области // *Восточно-Уральский радиационный след - ресурсы питания диких и домашних животных* /Под ред. А.П. Голощавова. Курган, ООО "Комстат", 2009, с. 315-341.

Кожевин П.А. Микробные популяции в природе. М., МГУ, 1989, 175 с.

Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn* в агроэкосистемах. М., Наука, 2007, 147 с.

Плотников А.М., Евсеев В.В. Микробиологическая активность черноземных почв центральной лесостепной зоны Курганской области // *Вестник Курганского гос. ун-та*, 2013, 3 (30), вып. 6, с. 120-123.

Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. М., 1983, 296 с.

Чулкина В.А., Торопова Е.Ю., Чулкин Ю.И., Стецов Г.Я. Агротехнический метод защиты растений. М., ИВЦ "МАРКЕТИНГ", 2000, 336 с.

## THE PHYTOSANITARY SOIL MONITORING OF AGRICULTURAL LANDSCAPES OF KURGAN REGION

V.V.Evsejev

The article discusses the problems of organization of the phytosanitary soil monitoring. The article presents the results of monitoring studies of biodynamics of the root rot pathogens populations and antagonistic saprotrophic soil microflora in agricultural landscapes of Kurgan region. A range of perspective directions for improving the system of the phytosanitary monitoring of the regional soils is indicated.

*Keywords:* phytosanitary monitoring, root rots, harmfulness threshold, the antagonistic soil potential.

В.В.Евсеев, д.с.-х.н., vadim.evseev.70@mail.ru

УДК 633.16:632.488(571.63)

## ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, УСТОЙЧИВЫЙ К СЕТЧАТОМУ ГЕЛЬМИНТОСПОРИОЗУ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

О.Г. Калантаевская, Г.А. Муругова

Приморский НИИ сельского хозяйства, п.Тимирязевский

Проведена оценка 326 образцов коллекции ярового ячменя ВНИИР и 40 линий селекции Приморского НИИСХ на устойчивость к сетчатой пятнистости (*Pyrenophora teres*) на высоком инфекционном фоне естественного развития болезни. Выявлены сорта с полевой устойчивостью к болезни и отличающиеся другими ценными признаками.

**Ключевые слова:** ячмень, *P. teres f. teres*, *P. teres f. maculate*, устойчивость сорта, сетчатый гельминтоспориоз.

Сетчатая пятнистость *Pyrenophora teres Drechs.* в настоящее время является распространенной и одной из наиболее вредоносных болезней ячменя в Приморском крае (Малахова, Мыльников, 2003). На посевах ячменя в крае превалирует типичная net-форма с сетчатым рисунком пятнистости, которую вызывает *P. teres f. teres*. На коллекционных посевах встречается также spot-форма с пятнами округлой формы, возбудитель *P. teres f. maculata*, впервые описанная V.S.Peterson (1977). Первые сведения о болезни в крае были опубликованы в 1965 г., приводились краткие данные о поражаемости коллекции ярового ячменя на Дальневосточной станции ВИР (Грачев, 1965), морфология возбудителя была уточнена в работе В.И.Горностай (1970).

Поражение ячменя сетчатым гельминтоспориозом приводит к преждевременному пожелтению и засыханию листьев, что в дальнейшем отрицательно сказывается на урожае (Азбукина и др., 1980). Определением вредоносности болезни занималась Т.А.Барбаянова (1978). По ее данным, потери урожая могут достигать 20-40%. При сильном поражении снижается фотосинтез, продуктивная кустистость, уменьшается число зерен в колосе и их масса.

В условиях влажной весны проявление болезни можно наблюдать уже на первых листьях всходов ячменя. При ранневесенней засухе, что наиболее характерно для условий Приморского края, первые признаки появляются в фазы выхода в трубку и колошения. В местных условиях отмечается довольно высокий естественный инфекционный фон, что приводит к поражению у высоко восприимчивых сортов листьев и колосьев, угнетению растений, отставанию в росте, пустоколосице.

Теплое и продолжительное лето, высокая влажность воздуха, частые туманы - специфические черты климата на преобладающей части территории Приморского края, способствующие усиленному развитию различных грибных болезней. Отмечено, что территория этого обширного региона может использоваться в качестве естественной лаборатории для проверки устойчивости сортов сельскохозяйственных культур к ряду грибных болезней (Смирнова, 1983).

Цель исследования - выделить и рекомендовать для включения в селекционный процесс устойчивый к сетчатой пятнистости и обладающий другими хозяйственно-ценными признаками исходный материал ярового ячменя.

### Методика исследований

Исследования проводили в 2009-2012 гг. на опытных полях лаборатории селекции зерновых и крупяных культур Приморского НИИСХ, расположенных в степной агроклиматической зоне Приморского края.

Объекты исследования - 326 образцов коллекции ВНИИР, 40 перспективных линий ярового ячменя селекции Приморского НИИСХ, местная популяция возбудителя сетчатой пятнистости ячменя (*P. teres*). В качестве

стандартов использовали сорта Приморский 89 и Приморский 98. Пораженность растений ячменя сетчатым гельминтоспориозом определяли по 4-балльной шкале по методике О.А.Афанасенко (1987), баллы переводили в проценты по формуле А.Е.Чумакова, Т.И.Захаровой (1990). Учеты пораженности ячменя проводили в фазу колошения. Наблюдения и фенологические учеты проводили по методике ВНИИР (Лукиянова и др., 1981). Структуру



урожая оценивали по 10 растениям. Изучаемая коллекция ярового ячменя была разбита на группы по происхождению (Вавилов, 1957) и на группы по степени устойчивости (Афанасенко, 1987).

### Результаты исследований

В годы исследований погодные условия в целом были благоприятны для развития болезни. Температурный фон наблюдался на уровне среднесезонных показателей, осадки выпадали регулярно, за исключением периодов вегетации 2009 и 2010 гг. Несмотря на то что май 2009 г. был засушливым, развитие болезни протекало успешно, так как выпавшие в июне осадки восполнили недостаток влаги. В 2010 г., наоборот, в июне был отмечен дефицит влаги, а баланс был уравновешен за счет того, что май характеризовался достаточным увлажнением. В Приморском крае наблюдаются продолжительные росы (до 9

Статистическая обработка данных проведена по методике В.Ф.Мойсейченко и др. (1996).

Метеорологические данные за годы исследований получены на агрометеостанции "Тимирязевский".

часов), что еще более увеличивает влажность в посевах и повышает поражаемость.

Сорта, устойчивые к болезни, были выявлены в основном из групп коллекционных образцов российской, канадской и китайской селекции. Среди изученных нами образцов ячменя европейской селекции устойчивых к болезни выявлено не было. В годы исследований поражение высоко восприимчивых коллекционных образцов достигало 85-100%. При анализе полученных данных было выявлено преобладание высоко восприимчивых сортов - 73.8%, доля высокоустойчивых и слабовосприимчивых образцов составила 5.1%.

Таблица. Характеристика источников устойчивости ярового ячменя к сетчатой пятнистости по основным селекционно-хозяйственным признакам (2009-2012)

Сорт, происхождение	Кустистость, шт		К-во зерен, шт/колосе	Масса зерна		Сетчатый гельминтоспориоз, %	
	общая	продуктивная		1000 зерен, г	растения, г	P*	P <sub>6</sub> *
Приморский 89 (ст.) (Приморский край)	3.0	2.9	22.3	46.5	3.4	100.0	55.0
Приморский 98 (ст.) (Приморский край)	3.7	3.4	23.2	47.3	3.8	100.0	60.0
<b>Устойчивые (СНГ, в т.ч. Россия)</b>							
Омский 85 (Омская обл.)*	5.0	2.6	42.2	39.5	4.8	40.0	0.6
<b>Страны Северной Америки</b>							
Reguis (Канада)*	3.8	2.2	41.3	38.5	4.7	70.0	1.0
<b>Слабовосприимчивые (СНГ, в т.ч. Россия)</b>							
Приморский 123 (Приморский край)	3.2	2.1	21.5	48.7	3.4	60.0	9.8
Приморский 193 (Приморский край)	3.6	3.5	28.8	43.6	4.2	70.0	8.5
Приморский 197 (Приморский край)	4.4	4.1	23.5	52.6	5.0	60.0	7.5
Колчан (Амурская обл.)*	6.9	5.7	46.7	38.0	5.4	60.0	5.5
<b>Страны Северной Америки</b>							
Etienne (Канада)*	5.0	3.8	41.2	46.3	4.7	60.0	4.5
Keystone (Канада)*	4.9	3.3	42.7	42.8	4.5	50.0	2.5
Bruce (Канада)*	5.8	5.2	44.1	39.7	4.6	60.0	3.5
<b>Страны Юго-Восточной Азии</b>							
Ken Pi 2 (Китай)	2.0	1.9	39.9	42.0	2.7	35.0	10.0
03 N5 (Китай)	2.4	2.2	46.1	38.4	3.3	20.0	6.0
HCP <sub>095</sub>	0.4	0.3	3.2	3.8	0.4		

\*Многорядные сорта, остальные двурядные, P- распространенность болезни, %;

P<sub>6</sub>\* - развитие болезни, %

На сортах российской селекции Лель, Зевс и на образце Margret (Германия) нами отмечена srot-форма с пятнами округлой формы. Развитие болезни на сорте Margret достигало

25-30%, на российских образцах интенсивность поражения не превышала 2-5%.

В результате исследований были выделены сорта, проявившие не только устойчивость к

сетчатой пятнистости, но и обладающие другими полезными селекционными признаками. Так, в настоящее время в Приморском НИИСХ выбрано селекционное направление на неполегаемость и короткостебельность. Среди изученных нами в группу короткостебельных входят сорта китайской селекции Ken Pi 2 и 03 N5 (табл.). Выделенный в процессе изучения исходный материал ярового ячменя будет включен в селекционный процесс.

#### Литература

Азбукина З.М., Барбаянова Т.А., Лукьянчиков В.П., Зайцева А. В. Возбудители болезней зерновых // Возбудители болезней сельскохозяйственных растений. М., Наука, 1980, с. 84-204.

Афанасенко О.С. Методические указания по диагностике и методам полевой оценки устойчивости ячменя к возбудителям пятнистостей листьев, ВАСХНИЛ, ВИЗР, Л., Пушкин, 1987, 20 с.

Барбаянова Т.А. Распространенность и вредоносность корневых гнилей злаков в Приморском крае // Сб. научн. тр., Приморского СХИ, Уссурийск, 1978, 73, с. 74 - 79.

Вавилов Н.И. Мировые ресурсы зерновых культур и льна, М., Л., Изд-во АН СССР, 1957, 462 с.

Горностаев В.И. Drechslera teres на злаках Приморского края // Микология и фитопатология, 1970, 4, 1, с. 69 - 73.

Грачев А.Д. Исходный материал сельскохозяйственных культур для селекции на устойчивость к грибным заболеваниям в условиях Приморского края: Автореф. канд. дисс., Л., 1965, 18 с.

Итак, в условиях Приморского края искусственное заражение ячменя *P. teres* не всегда оправдано, поскольку сужаются возможности отбора. В годы с достаточным увлажнением на селекционных посевах формируется высокий фон естественного развития болезни, и при оценке необходимо использовать этот природный фон для первичного отбора устойчивых образцов и выбраковки восприимчивых.

Лукьянова М.В., Родионова Н.А., Трофимовская А.Я. Методические указания по изучению мировой коллекции ячменя и овса. ВИР, Л., 1981, 39 с.

Малахова Н.М., Мельников Н.М. Вредоносность сетчатого гельминтоспориоза ячменя в условиях Приморского края // Пути повышения эффективности научных исследований на Дальнем Востоке, сб. науч. тр. ДВ науч.-метод. центра, Новосибирск, 2003, с. 273-275.

Мойсейченко В.Ф., Трифонова М.Ф., Заверюха А.Х., Ещенко В.Е. Основы научных исследований в агрономии. М., Колос, 1996, 336 с.

Смирнова З.Г. Селекция ярового ячменя в условиях Приморского края: Автореф. канд. дисс., Уссурийск, 1983, 20 с.

Чумаков А.Е., Захарова Т.И. Вредоносность болезней сельскохозяйственных культур. М., Агропромиздат, 1990, 127 с.

Smedegaard-Petersen V. Inheritance of genetic factors for symptoms and pathogenicity in hybrid of *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea* // Phytopathol., 1977, 89, p. 193-202.

#### INITIAL MATERIAL OF SPRING BARLEY RESISTANT TO NET BLOTCH IN CONDITIONS OF PRIMORSKY TERRITORY

O.G.Kalantayevskaya, G.A.Murugova

326 samples of spring barley collection of the All-Russian Research Institute of Plant Production and 40 selection lines of spring barley collection of the Primorsky Research Institute of Agriculture were evaluated by resistance to the Net blotch (*Pyrenophora teres*), using highly infected background. Varieties with field resistance to the disease were defined, having other valuable characteristics.

**Keywords:** *barley disease, Pyrenophora teres f. teres, Pyrenophora teres f. maculate, resistance.*

О.Г.Калантаевская, к.с.-х.н., olga.kalant.primmiish@mail.ru  
Г.А.Муругова, м.н.с., gal.murugova@yandex.ru

УДК 632.64/482.11:638.132(470.62)

**СОРТОВАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ГИДРАНГЕИ КРУПНОЛИСТНОЙ К ГОЛЫМ СЛИЗНЯМ И МУЧНИСТОЙ РОСЕ В СУБТРОПИКАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ****Н.Н. Карпун, В.И. Маляровская***Всероссийский НИИ цветоводства и субтропических культур, Сочи*

Десятилетний мониторинг на естественном фоне поврежденности гидрангеи крупнолистной (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.) голыми слизнями и поражаемостью мучнистой росой (*Erysiphe polygoni* DC) позволил выявить 18 устойчивых сортов. Установлено, что чем толще и грубее листовая пластинка, тем сорт устойчивее к указанным биотическим факторам.

**Ключевые слова:** гидрангея крупнолистная, сорт, голые слизни, мучнистая роса, устойчивость, толщина листовой пластинки.

Гидрангея крупнолистная (*Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser.), более известная под названием "гортензия", довольно распространенная и общепризнанная декоративная культура. В естественных условиях она растет в Японии и Восточном Китае, а многочисленные садовые формы широко культивируются по всему земному шару. В настоящее время в нашем регионе в открытом грунте культивируется около 40 сортов гидрангеи крупнолистной, но только 28 хорошо зарекомендовали себя в специфических климатических условиях влажных субтропиков. В основном это сорта старой селекции: высокорослые, мелкобрактеевые, с тонкими цветоносами, преимущественно с варьирующей окраской - от розовой до синей в зависимости от кислотности почвы (Маляровская и др., 2011).

Несмотря на то что гидрангея крупнолистная известна на Сочинском побережье со второй половины 19 века, многие аспекты ее культуры до недавнего времени оставались не вполне изученными, в т.ч. устойчивость сортов к болезням и вредителям.

С помощью устойчивых сортов возможно многолетнее регулирование численности вредителей и возбудителей болезней без применения химических средств (Шапиро и др., 1986; Миско, 1986). Последнее имеет немаловажное значение в курортных регионах, к которым относятся субтропики Краснодарского края, где запрещено применение пестицидов. Однако, в отличие от сельскохозяйственных, вопросы сортовой устойчивости декоративных культур (как древесных, так и травянистых) к стресс-факторам биотической природы изучены недостаточно.

**Материалы и методика**

Объект исследований - черенки, саженцы 1-3 лет (контейнерная культура) и взрослые растения 28 сортов гидрангеи крупнолистной. Мониторинговые исследования проводились в период 2003-2012 гг. методом маршрутных обследований в городских и санаторных парках, уличных посадках, частных садах, питомниках Большого Сочи (Карпун, 2010). Детальные обследования проводились в насаждениях Субтропического ботанического сада

Кубани и сада-музея "Дерево Дружбы" ГНУ ВНИИЦиСК Россельхозакадемии. Оценка устойчивости сортов к вредителям и болезням проводилась по методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур (1985) применительно к красивоцветущим кустарникам; идентификация возбудителей - макро- и микроскопическими методами (Braun, 1995; Карпун, 2010).

**Результаты исследований**

Результаты исследований показали, что в целом состояние культуры на Черноморском побережье России удовлетворительное, однако не все сорта характеризуются устойчивостью к вредителям и болезням.

Среди вредителей гидрангеи крупнолистной наиболее распространенными и вредоносными являются голые слизни (представители родов *Agriolimax*, *Arion* и другие), среди болезней - мучнистая роса (*Erysiphe polygoni*

DC). Помимо них в урбозокосистемах на растениях гидрангеи крупнолистной были отмечены серая гниль (*Botrytis cinerea* Pers.; на листьях, молодых побегах и соцветиях), пятнистости листьев (возбудители *Ascohyta hydrangea* Arn., *Phoma exigua* var. *exigua* Sacc. (син. *Phyllosticta hydrangea* Ell. et Ev.), *Septoria hydrangeae* Bizz.), но эти виды менее распространены (Карпун, Маляровская, 2011).

Голые слизни в открытом грунте в субтропиках Краснодарского края встречаются повсеместно. Вредители овальной формы, серовато-желтой или коричневатой окраски длиной до 50 мм, с широкой пищевой специализацией. В период вегетации прогрызают продолговатые отверстия с неровными краями в листьях, в зимний период выгрызают почки. Способны сильно размножаться в дождливые годы. Особенно активны они в условиях невысокой температуры воздуха и обильных осадков, то есть в условиях субтропиков Краснодарского края - в осенне-зимне-весенний период.

Наибольшую опасность вредители представляют для укореняющихся черенков и молодых саженцев первого-второго года. В этих случаях голые слизни могут объедать 100% листьев и почек, приводя растения к гибели. Результаты наших исследований позволили выделить группу сортов, не повреждаемых голыми слизнями и, частично, мучнистой росой (табл. 1).

Данные таблицы 2 показывают, что сорта устойчивые к повреждениям голыми слизнями и поражению мучнистой росой отличаются большей толщиной листовой пластинки. При этом внешне листовая пластинка выглядит более грубой по сравнению с восприимчивыми сортами.

Результаты исследований в субтропиках Краснодарского края позволили выявить сорта гидрангеи крупнолистной, обладающие групповой устойчивостью к биотическим стресс-факторам. К ним относятся *Admiration*, *Altona*, *Bouquet* и другие.

Установлена связь между толщиной листовой пластинки различных сортов гидрангеи крупнолистной и их устойчивостью к голым слизням и мучнистой росе. Этот признак можно рассматривать как один из факторов устойчивости.

Таблица 1. Устойчивость сортов гидрангеи крупнолистной к вредителям и болезням в субтропиках Краснодарского края

Устойчивые к вредителям и болезням	Повреждаемые голыми слизнями	Поражаемые мучнистой росой
<i>Admiration</i> , <i>Altona</i> , <i>Bouquet Rose</i> , <i>Beaute Vendomoise</i> , <i>Draps Wonder</i> ,	<i>Bichon</i> , <i>Joseph Banks</i> , <i>Jogosaki</i> , <i>Madame de Vries</i> , <i>Madame Faustin Travouillon</i> , <i>Mariesii Silver</i> , <i>Pensee</i> , <i>Porzellan</i> , <i>Variegata Lutescens</i>	<i>Bichon</i> , <i>Joseph Banks</i> , <i>Jogosaki</i> , <i>Madame de Vries</i> , <i>Madame Faustin Travouillon</i>
<i>Enziandom</i> , <i>General Patton</i> , <i>General Vicomtesse de Vibraye</i> ,	<i>Hamburg</i> , <i>Le Cygne</i> , <i>Madame Maurice Hamard</i> , <i>Mariesii Grandiflora</i> , <i>Mariesii Lilacina</i> , <i>Mariesii Perfecta</i> , <i>Monsieur Ghys</i> , <i>Mousseline</i> , <i>Soeur Therese</i> , <i>Venus for. rosea</i>	

Таблица 2. Толщина листовой пластинки у сортов гидрангеи крупнолистной в субтропиках Краснодарского края

Наименование сорта	Толщина листовой пластинки, мм
<b>Устойчивые сорта</b>	
<i>Admiration</i>	0.254±0.005
<i>Altona</i>	0.348±0.003
<i>Beaute Vendomoise</i>	0.242±0.007
<i>Bouquet Rose</i>	0.247±0.005
<i>Draps Wonder</i>	0.358±0.002
<i>General Patton</i>	0.351±0.002
<i>General Vicomtesse de Vibraye</i>	0.239±0.004
<i>Hamburg</i>	0.318±0.004
<i>Le Cygne</i>	0.256±0.005
<i>Madame Maurice Hamard</i>	0.255±0.004
<i>Mariesii Grandiflora</i>	0.321±0.006
<i>Mariesii Perfecta</i>	0.356±0.003
<i>Soeur Teresa</i>	0.273±0.002
<i>f. rosea</i>	0.351±0.003
<b>Восприимчивые сорта</b>	
<i>Bichon</i>	0.210±0.003
<i>Jogosaki</i>	0.217±0.004
<i>Joseph Banks</i>	0.196±0.007
<i>Madame de Vries</i>	0.221 ±0.004
<i>Madame Faustin Travouillon</i>	0.158±0.006
<i>Mariesii Silver</i>	0.217±0.005
<i>Pensee</i>	0.205±0.003
<i>Porzellan</i>	0.194±0.003
<i>Variegata Lutescens</i>	0.176±0.004

## Литература

- Карпун Н.Н. Защита растений. Методика обследования насаждений. Сочи, СГУТиКД, 2010, 49 с.
- Карпун Н.Н. Защита растений. Определитель болезней и вредителей листьев. СГУТиКД, Сочи, 2010, 71 с.
- Карпун Н.Н., Маляровская В.И. Болезни и вредители гидрангеи крупнолистной на Черноморском побережье России // Субтропич. и декорат. садоводство: сб. науч. тр., 2011, 45, с. 242-247. .
- Маляровская В.И. Гидрангея крупнолистная на Черноморском побережье Кавказа. Сочи, ВНИИЦиСК, 2011, 35 с.
- Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. /Ред. М.А.Федина. МСХ СССР, М., 1985, 285 с.
- Миско Л.А. Розы. Болезни и защитные мероприятия. М., Наука, 1986, 248 с.
- Шапиро И.Д. и др. Иммуитет растений к вредителям и болезням. Л., Агропромиздат, 1986, 192 с.
- Braun U. The Powdery mildews (Erysiphales) of Europe. Jena, Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag, 1995, 337 p.
- Karpun N.N. Representatives of Erysiphaceae family on flower-and-ornamental varieties in Sochi // Найновите научни постижения: матер. VIII междунар. науч.-практ. конф., 2012, 28. "Биологии. Химия и химически технологии" София: "Бял ГРАД-БГ" ООД, 2012, с. 9-13. - Eng.

RESISTANCE OF *HYDRANGEA MACROPHYLLA* VARIETIES TO SLUGS AND POWDERY MILDEW IN SUBTROPICS OF KRASNODAR TERRITORY

N.N.Karpun, V.I.Malyarovskaya

Resistance of *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. varieties to slugs and powdery mildew is revealed. Long-term researches have allowed allocating 18 resistant varieties. The correlation between thickness of leaf plate of various hydrangea varieties and their resistance to slugs and powdery mildew is proved. The thicker and rougher is the leaf plate of a variety, the higher is resistance of this variety to stress factors in the studied region.

**Keywords:** *Hydrangea macrophylla*, variety, slugs, powdery mildew, resistance, leaf plate.

Н.Н.Карпун, к.б.н., nkolem@mail.ru

В.И.Маляровская, к.б.н.,

malyarovskaya@mail.ru

УДК:632.913.1(470.62):633

РОЛЬ КАРАНТИННЫХ ВИДОВ В ЗАСОРЕНИИ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР СТЕПНОЙ ЗОНЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

Т.Ю. Закога

*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург*

Сообщается о распространении карантинных сорных растений - амброзии полыннолистной и горчака ползучего в посевах полевых культур севооборота на территории Краснодарского края. Оценена значимость этих видов в засорении полевых культур. На основе анализа показателей численности сорных растений с использованием базы данных "Сорные растения во флоре России" осуществлена прогностическая оценка ожидаемого вреда.

**Ключевые слова:** карантин растений, амброзия полыннолистная, горчак ползучий, частный индекс ожидаемого вреда, мониторинг, прогноз, база данных.

Карантинные сорные растения - особо вредные виды сорняков, не произрастающие или ограниченно распространенные на данной территории, но с большим потенциалом возможной натурализации. Завезенные сорные растения часто более агрессивны в новых условиях обитания, чем на родине, где их распространение ограничивается болезнями, вредителями и другими биологическими факторами (Сельскохозяйственный..., 1989).

Амброзия полыннолистная (*Ambrosia artemisiifolia* L., семейство Астровые Asteraceae Dumort., род *Ambrosia* L.) - поздний яровой однолетник, размножающийся только

семенами, один из злостных карантинных сорняков на территории Краснодарского края. Завезен из Америки вместе с семенами клевера, суданской травы и огородных культур. Засоряет практически все полевые культуры, особенно сильно поля, занятые овощными и пропашными (Архангельский, 1953; Никитин, 1983).

В отличие от амброзии полыннолистной, другой карантинный вид - горчак ползучий *Acroptilon repens* (L.) D.C. был зарегистрирован в Краснодарском крае сравнительно недавно. Горчак ползучий - корнеотпрысковый многолетник, принадлежащий семейству Аст-

ровые, роду Горчак *Acroptilon* Cass. (Москаленко, 2001). В очагах сорняка практически не произрастает ни один вид культурного растения. Очень трудный вид для проведения любых защитных мероприятий (Артохин, 2004).

Материалами для статьи послужили результаты обследования полей в Славянском районе Краснодарского края в 2012-2013 гг., проведенные по методике геоботанического учета засоренности посевов сельскохозяйственных культур (Марков, 1970; Лунева, 2002). В соответствии с данной методикой обследование полей проводилось в период цветения подавляющего большинства видов сорных растений в агроценозе и было направлено на изучение сформировавшейся в посевах культуры засоренности с целью разработки прогноза засорения конкретной территории в следующий полевой сезон.

Анализ данных по засоренности полевых культур проведен с использованием базы данных "Сорные растения во флоре России" (Лунева, Лебедева, 2012).

Кроме того, была вычислена прогностическая оценка ожидаемого вреда от сорных растений (Лунева и др., 2012). Согласно данной методике для оценки роли доминирующих в посевах текущего полевого сезона видов сорных растений и разработки прогноза их развития в следующий полевой сезон определяется частный индекс (ЧИ) засоренности посева одним видом сорного растения, интегрирующий показатели его численности и коэффициент ожидаемого от этого вида вреда. Коэффициент ожидаемого вреда отражает неравнозначность видов разных биологических групп, выражающуюся в том, что одни и те же количественные показатели для разных видов соответствуют разной степени засоренности посева. В этой связи сорным растениям из группы однолетних двудольных видов присвоен коэффициент ожидаемого вреда равный 2, а из группы корнеотпрысковых двудольных многолетних - равный 4.

Значение частного интегрального индекса (ЧИ) определяется по формуле:

$$\text{ЧИ} = \text{Врк} \times \text{Прк},$$

где Врк - коэффициент ожидаемого вреда, в баллах; Прк - средний показатель проективно-покрытия, в баллах.

Мониторинг сорной растительности осу-

ществлялся на базе трех хозяйств Славянского района: "ООО Аспект", "КФХ Руднев" и "Учебное хозяйство Славянского сельскохозяйственного техникума". Работа проводилась в посевах пропашных (кукуруза, подсолнечник, картофель, соя), зерновых (пшеница, овес) и кормовых (люцерна) культур.

Более высокие показатели ЧИ ожидаемого вреда у амброзии полыннолистной в агроценозах всех культур при более низком по сравнению с горчаком ползучим коэффициенте ожидаемого вреда свидетельствуют как о высоких показателях встречаемости и обилия амброзии полыннолистной, так и о стабилизации этого вида в агроценозах степной зоны Краснодарского края (рис. 1).

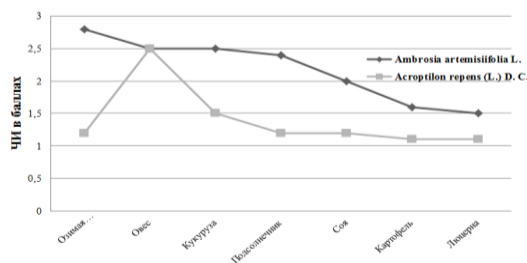


Рис. 1. Средние показатели ЧИ амброзии полыннолистной и горчака ползучего в посевах полевых культур (Краснодарский край, 2012-2013)

Наибольший частный индекс ожидаемого вреда у амброзии полыннолистной зарегистрирован в посевах озимой пшеницы (2.8 балла при пороговом значении для этой биологической группы 3 балла). Высокий показатель ЧИ у амброзии полыннолистной в посевах пшеницы озимой не может быть поводом для тревоги на тех полях, где по схеме севооборота после пшеницы озимой предполагается размещение той же культуры. Будучи поздним яровым видом, амброзия полыннолистная неконкурентоспособна по сравнению с пшеницей озимой, которая успевает укрепиться до того, как амброзия полыннолистная начнет расти и развиваться. Однако, беспрепятственно развиваясь после уборки пшеницы, это сорное растение значительно пополняет почвенный банк семян, что негативно отразится на посеве следующей после озимой пшеницы культуры севооборота. Предпороговые значения ЧИ у амброзии полыннолистной отмечены в посевах овса, кукурузы (2.5 балла) и подсолнечника (2.4 балла). Минимальная засо-

ренность амброзией полыннолистной отмечена в посадках картофеля (ЧИ= 1.6 балла) и посевах люцерны (ЧИ= 1.5 балла).

Меньшие показатели ЧИ ожидаемого вреда от горчака ползучего в агроценозах всех, кроме овса, культур при более высоком по сравнению с амброзией полыннолистной коэффициенте ожидаемого вреда свидетельствуют о низких показателях встречаемости и обилия горчака ползучего в агроценозах степной зоны Краснодарского края. Тем не менее, он отмечен в посевах всех обследованных культур, причем в посевах овса с высоким показателем ЧИ= 2.5 балла (при пороговом значении для этой биологической группы 4 балла). Наименьшая засоренность (1.1 балла) данным карантинным видом отмечалась в посевах картофеля и люцерны.

Показатели засоренности амброзией полыннолистной и горчаком ползучим совокупности агроценозов обследованных хозяйств свидетельствуют о высоком уровне насыщенности полей всех хозяйств амброзией полыннолистной (рис. 2).

Различия показателей засоренности обоими карантинными видами в хозяйствах кроются в разном уровне защиты посевов от сорных растений. Высокие показатели засоренности агроценозов карантинными (и не только) ви-

дами сорных растений в хозяйстве "КФХ Руднев" обусловлены низким уровнем агротехнических мероприятий и неиспользованием гербицидов для борьбы с сорными растениями. В учебном хозяйстве славянского СХТ применяли гербициды, но обработки были сделаны с нарушением сроков внесения и кратности.

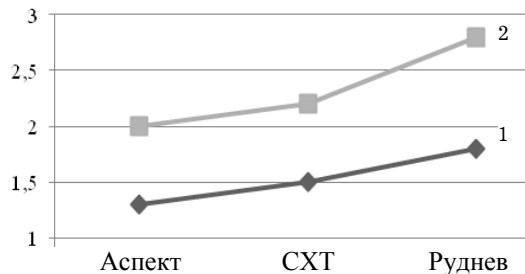


Рис. 2. Средние показатели ЧИ амброзии полыннолистной (1) и горчака ползучего (2) в обследованных хозяйствах Краснодарский край, 2012-2013

Показано, что амброзия полыннолистная особо вредоносна в посевах пропашных культур. Горчак ползучий вносит наибольший вклад в засорение посевов овса и кукурузы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края в рамках гранта № 13-07-96508 р\_юг\_a.

#### Литература

Артохин К.С. Атлас Сорные растения. Ростов-на-Дону, 2004, 144 с.

Архангельский М.П. Сорные растения и меры борьбы с ними (главнейшие сорняки Краснодарского края). Краснодар, Краснодарское книжное изд-во, 1953, 180 с.

Лунова Н.Н. Геоботанический учет засоренности посевов сельскохозяйственных культур. Методы мониторинга и прогноза развития вредных организмов. Москва-СПб, 2002, с. 82-88.

Лунова Н.Н., Лебедева Е.Г. Методическое пособие по работе с базой данных "Сорные растения во флоре России" // Методы мониторинга и прогноза развития вредных организмов, СПб, Пушкин, ВИЗР, 2012, с. 98-116.

Лунова Н.Н., Семенова Н.Н., Филиппова Е.В. Мето-

дическое пособие по prognostической оценке ожидаемого вреда от сорных растений // Методы мониторинга и прогноза развития вредных организмов, СПб, Пушкин, ВИЗР, 2012, с. 93-97.

Марков М.В. Сорно-полевая растительность и методика ее изучения // Учебное пособие. Казань, Изд-во Казанского ун-та, 1970, 51 с.

Москаленко Г.П. Карантинные сорные растения России. М., Росгоскарантин, 2001, 280 с.

Никитин В.В. Сорные растения флоры СССР. Л., Наука, 1983, 454 с.

Сельскохозяйственный энциклопедический словарь. Главный редактор Месяц В.К. М., Советская энциклопедия, 1989, 656 с.

## ROLE OF QUARANTINE WEED SPECIES IN CONTAMINATION OF FIELD CROPS OF STEPPE ZONE OF KRASNODAR TERRITORY

T.Yu.Zakota

The distribution of quarantine weed plants *Ambrosia artemisiifolia* and *Acroptilon repens* in crop rotation of field cultures in the Krasnodar Territory is reviewed. The species role in contamination of field crops is estimated. An assessment of expected harmfulness is carried out with use of the "Weed Plants in Flora of Russia" database.

**Keywords:** quarantine, weed, *Ambrosia artemisiifolia*, *Acroptilon repens*, harmfulness, monitoring, forecast, database.

Т.Ю.Закота, аспирант, bagira036@mail.ru

УДК 633.853.74:631.586:632.6/7

## ВРЕДИТЕЛИ КУНЖУТА В УСЛОВИЯХ БОГАРЫ

Ф.А. Гаппаров, Ш.Б. Аманов

Узбекский НИИ защиты растений, Ташкент

Исследованиями 2012-2013 гг. установлено, что в условиях Узбекистана кунжут повреждают 12 видов вредителей, основной вредоносный вид - кунжутная стеблевая златка (*Acmaeodera ballionis* Gangb.).

Ключевые слова: кунжут, вредители.

Кунжут относится к самым ценным масличным культурам. Его семена содержат 50-62% масла и до 24% белка. Кунжут, в силу его биологических особенностей, возделывается преимущественно на обеспеченной осадками богаре долинных и предгорных районов Узбекистана.

Урожайность кунжута на богарных землях составляет в среднем от 1.5 до 2.0 ц/га, в засушливые годы еще ниже, что экономически невыгодно. Для повышения урожайности в первую очередь под культуру нужно отводить участки со структурными и плодородными почвами, проводить своевременную весеннюю обработку для сохранения влаги и уничтожения сорняков, сдерживать численность вредителей.

В целях разработки комплекса защитных мероприятий нами было начато изучение видового состава вредителей кунжута в условиях богарного земледелия Кашкадарьинской, Самаркандской и Джизакской областей (2012-2013 гг.).

Сбор вредителей проводили маршрутным способом в течение вегетационного периода с интервалом в 20 дней с использованием энтомологического сачка (кошение в пяти точках каждого участка по 10 взмахов) и при учетах на растениях (осмотр растений и вскрытие образующихся плодоорганов в 10 пробах по 5 растений, расположенных по диагонали поля).

Видовую принадлежность вредителей устанавливали с использованием "Определителя сельскохозяйственных вредителей по повреждениям культурных растений" (1976).

Обследованиями выявлено значительное видовое разнообразие фитофагов, способных заселять и повреждать кунжут в период вегетации. Их хозяйственное значение неоднородно и изменяется в зависимости от погодных, почвенных и иных условий. Зарегистри-

рованные нами 12 видов вредителей (табл. 1) мы разделили по вредоносности на 3 группы: опасные вредители (повреждающие культуру на уровне 27-100%), факультативно опасные (повреждения имеют очаговый характер и в целом не превышает 10%) и практически безвредные или нейтральные (данные ниже ЭПВ). Наиболее опасным вредителем оказалась кунжутная златка.

Таблица 1. Степень вреда фитофагов кунжута

Вредители	Вред
Длиннохвостый кузнечик <i>Tettigonia caudata</i> Charp.	+
Сверчок вертун <i>Oecantus turanicus</i> Uv.	+
Богарный посевной щелкун <i>Agriotes nadari</i> Buys.	+
Кунжутная стеблевая златка <i>Acmaeodera ballionis</i> Gangb.	+++
Гороховая стеблевая златка <i>Acmaeodera cuprinula</i> Rtt.	+
Туркестанский кукурузный навозник <i>Pentodon dubius</i> Ball.	+
Богарный хрущ <i>Rhizotrogus fortis</i> Rtt.	+
Хлебный хрущ <i>Cyriopertha glabra</i> Gebl.	++
Бледнолобый кузнечик <i>Decticus albifrons</i> F.	+
Нарывник двупятнистый <i>Mylabris biguttata</i> Gebl.	+
Кузнечик зеленый <i>Tettigonia viridissima</i> L.	+
Рыжая цикада <i>Cicadatra ochreate</i> Mel.	+
+ безвредные или нейтральные, ++ факультативно опасные, +++ опасные вредители	

Кунжутная златка - небольшое насекомое длиной 4.5-5.5 мм, с выпуклым, не уплощенным сверху вниз телом; переднеспинка с прямым задним краем, вдоль которого проходит ряд густых тонких, коротких продольных морщинок; надкрылья с точечными бороздками, основание их окаймлено тонким, но резко возвышенным кантиком; боковой край надкрыльев с треугольной вырезкой под плечевым бугром; усики и ноги очень короткие. Тело жуков бронзовое, без светлого рисунка



на надкрыльях, покрытое (особенно снизу) короткими, белыми, не плотно прилегающими чешуевидными волосками, расположенными продольными рядами на промежутках надкрыльев.

Нами установлено, что Кунжутная златка, выходя из зимовки в середине мая, развивается на ряде сорных растений: василек беланже *Certaurea belangeriana* Lam., василек придавленный *Certaurea depressa* MB, василек иберийский *Certaurea iberica* Trev., василек растопыренный *Certaurea sguarrosa* Willd., цельнолистник широколистный *Haplophyllum latifolium* K. et K., цельнолистник разноцветный *Haplophyllum versicolor* F. et M. С указанных сорных растений вредитель расселяется на посевы сельскохозяйственных культур.

Кунжутная златка откладывает яйца по одному в деревянистую часть стебля, а сверху прикрывает их плотной беловато-пористой крышечкой. Вышедшая из яйца личинка прогрызает в сердцевине ход. В результате поврежденные растения кунжута засыхают или у них отмечается преждевременное раскрытие коробочек.

Личинка желтая или беловатая, безногая, в редких волосках, длинная и узкая, с сильно расширенными грудными сегментами; два задних грудных сегмента и первого брюшного сегмента сверху и снизу с парными мозоле-

видными бугорками, служащими для передвижения; голова вытянутая, с полуперепончатými, но с ясным (наличником, наличием) верхней губы, с сильными острыми зубцами жвалами, но без зачатков усиков; средние и задние сегменты по бокам с продольной складкой, последний сегмент сужен назад, а на вершине плоско, выемчатый; длина до 7 мм.

Зимуют личинки кунжутной златки в тех же стеблях, где и развивались, а следующей весной тут же и окукливаются.

В целях изучения поврежденности кунжута кунжутной златкой 15 августа на поле обследовались выбранные рендомизированным способом пробы по 100 растений в 4-х местах. Поврежденность растений кунжута устанавливали по наличию беловато-пористой крышечки, закрытой после откладки яиц.

Зараженность кунжутной златкой составляет в среднем 40.0%, а гибель растений - 9.25%. Размер погибших растений зависит от срока заражения и количества личинок в стебле. Следует отметить, что кунжутная стеблевая златка для откладки яиц выбирает в основном наиболее слабые растения.

Таким образом, в условиях Узбекистана кунжут повреждают 12 видов насекомых, из которых кунжутная златка является основным вредителем. Вследствие заселения кунжута этим вредителем погибает в среднем 9.25% растений.

#### Литература

Определитель сельскохозяйственных вредителей по повреждениям культурных растений. Под. ред. д-ра с.-х.

наук, проф. Г.Е.Осмоловского. Л.; Колос, 1976, 696 с.

## PESTS OF SESAME IN DRY-FARMING LAND CONDITIONS

F.A.Gapparov, Sh.B.Amanov

During the 2012-2013 researches in Uzbekistan, 12 insect pests were identified, damaging sesame. The main pest of the sesame is *Acmaeodera ballionis* Gangb.

Keywords: *Uzbekistan, sesame, pest, Acmaeodera ballionis.*

Ф.А.Гаппаров, shuha2082@yandex.ru  
Ш.Б.Аманов, аспирант

УДК 635.9:582.916.16:595.753.1

**IGUTETTIX OCULATUS (НОМОПТЕРА, АУЧЕНОРРХИНСА, СИКАДЕЛЛИДАЕ) -  
ИНВАЗИВНЫЙ ВИД ЦИКАДКИ НА СИРЕНИ В ПАРКОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ  
САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

**В.М. Гнездилов**

*Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург*

Приведены данные по распространению дальневосточного вида цикадовых - *Igutettix oculatus* (Lindberg, 1929) в Европе; обобщены сведения по его фенологии и кормовым растениям. Указано на необходимость мониторинга этого вида в Санкт-Петербурге и Ленинградской области как вредителя декоративных видов сирени в городских парках и скверах.

*Ключевые слова:* цикадка, инвазивный вид, вредитель сирени.

По данным С.С.Ижевского и В.Ю.Маслякова (2008), в настоящее время на территории России каждый год фиксируется новый инвазивный вид растительноядных насекомых. В Санкт-Петербурге одним из таких видов является цикадка *Igutettix oculatus* (Lindberg, 1929), относящаяся к трибе *Dikraneurini* подсемейства *Typhlocybinae* семейства *Cicadellidae*. Этот вид из Приморского края был описан Х.Линдбергом под названием *Dikraneura oculata* (Lindberg, 1929). Позже он был вторично описан как *Dikraneura maculosa* (Vilbaste, 1968). Однако вскоре была установлена синонимия этих названий и описан отдельный род для этого вида - *Vilbasteana* (Anufriev, 1970). Наконец, сравнительно недавно, И.Двораковская (Dworakowska, 1993) установила синонимию *Vilbasteana oculata* (Lindberg, 1929) и *Igutettix pulverosus* Matsumura, 1932 (описан из Японии, о. Хонсю), что повлекло за собой и синонимию родовых названий *Vilbasteana* Anufriev, 1970 и *Igutettix* Matsumura, 1932. Таким образом, естественный ареал *Igutettix oculatus* (Lindberg, 1929) включает Японию, Приморский и Хабаровский края, где этот вид встречается в долинных широколиственных и смешанных лесах на амурской сирени (*Syringa reticulata amurensis* (Rupr.) P.S.Green et M.C.Chang) (Anufriev, 1970, 1978; Ануфриев, Емельянов, 1988). В целом род *Igutettix* включает 2 вида: кроме упомянутого *I. oculatus*, еще *I. fulvus* (Chiang, Hsu et Knight, 1990) с Тайваня (Dworakowska, 1993).

В европейской части России *I. oculatus* был

впервые отмечен Д.Ю.Тишечкиным в Москве и Московской области в 1984 г. (Тишечкин, 1988, 1989). В коллекцию Зоологического института РАН этот вид попал из Санкт-Петербургского государственного университета (внутренний двор здания Двенадцати коллегий на Университетской набережной), где я собрал серию из 7 экземпляров на венгерской сирени (*Syringa henryi* Schneid) 23 августа 2002 г. С тех пор я регулярно отмечаю этот вид в парке "Муринский ручей" на севере Санкт-Петербурга. Первое печатное упоминание этого вида в фауне цикадовых Санкт-Петербурга принадлежит А.Ф.Емельянову (Emeljanov, 2004).

За последние годы в Европе опубликован ряд статей, посвященных *I. oculatus*, в то время как в нашей литературе по карантинным видам нет сведений по его распространению на северо-западе европейской части России и каких-либо данных мониторинга его численности и причиняемого им вреда декоративным видам растений. Однако наблюдения показывают, что *I. oculatus* является массовым видом на сирени в Санкт-Петербурге с поздней весны (конец мая) и до поздней осени (начало ноября) и, вероятно, именно благодаря питанию имаго и личинок этого вида происходит характерное пятнистое пожелтение и последующее увядание (по краям) листьев сирени (рис. А), что пагубно сказывается на декоративных качествах кустов в городских и дворцовых парках Санкт-Петербурга и его окрестностей.



А



Б

Рис. А- Венгерская сирень на стадии усыхания листьев, Санкт-Петербург, Муринский ручей, 12.08.2007, Б- Имаго *Igotettix oculatus* на листе венгерской сирени с хлоротическими пятнами, Санкт-Петербург, Муринский ручей, 04.09.2013

Д.Ю.Тишечкин (1989) описал фенологию *I. oculatus* в Москве и Подмоскowie, а финский энтомолог Г.Седерман (Söderman, 2005) изучил этот вид в Хельсинки. Без сомнения данные, полученные этими авторами, могут быть экстраполированы и на популяции цикадки в Санкт-Петербурге. Суммарно это выглядит следующим образом. Самки *I. oculatus* откладывают яйца в молодые побеги поздним летом, то есть вид зимует на стадии яйца. Личинки появляются на листьях сирени в середине мая - начале июня. Имаго первого поколения встречаются с начала июня по середину июля. После копуляции самки первого поколения откладывают яйца в центральную жилку листа. Личинки второго поколения появляются с конца июля по начало августа. Имаго второго поколения встречаются с августа до конца октября (рис. Б).

Взрослые цикадки буровато-желтые с 2 крупными темными пятнами на темени, общая длина (от вершины темени до кончиков передних крыльев) - 4.4-4.9 мм. Личинки зеленовато-желтые. Экзувии белые.

Личинки и имаго питаются на нижней стороне листьев сирени, в Санкт-Петербурге - это уже упомянутая венгерская сирень (*Syringa henryi* Schneid) и сирень обыкновенная (*S. vulgaris* L.) (Gnezdilov et al., 2008). Также этот вид отмечен на ясене (*Fraxinus*) (Emeljanov, 2004; Söderman et al., 2009), в то время как указание *I. oculatus* с *Viburnum* (Vilbaste, 1968) признано ошибочным (Anufriev, 1970). Ли-

чинки и имаго активно высасывают соки из клеток мезофилла листьев, при этом около 50-70% площади листовой пластинки оказывается лишенной хлорофилла (Тишечкин, 1989).

За 30 лет, прошедших с момента первой находки *I. oculatus* в Европе, ареал вида значительно расширился. К настоящему времени *I. oculatus*, кроме Московской и Ленинградской областей, в России известен также из Карелии (Söderman, 2005), а за пределами нашей страны - из Беларуси (Бородин, 2009), Эстонии (Söderman et al., 2009) и Финляндии (Albrecht et al., 2003). Распространение вида на север, вероятно, следует связывать с общим потеплением климата последних лет, в частности, с поздней теплой осенью. Ночные заморозки могут быть главным лимитирующим фактором его дальнейшей экспансии (Söderman, 2005). Б.А.Коротяев (2013) указывает на изменение климата, как одну из причин, объясняющих расширение на Кубани ареала долгоносика *Otiorhynchus ovalipennis* Boheman, 1843.

Необходим мониторинг *I. oculatus* в Санкт-Петербурге и картирование его распространения в Ленинградской области с последующей выработкой экологически безопасных методов регуляции численности этого вида. В качестве таковых может быть использована обрезка молодых побегов, в которые цикадки откладывают зимующие яйца.

Благодарности: О.И.Бородину (Минск, Беларусь) и А.Эндрестолу (Dr A.Endrestöl) (Осло, Норвегия) за помощь с литературой. Фотографии выполнены М.А.Гнездиловой (Санкт-Петербург).

## Литература

- Ануфриев Г.А. Цикадки Приморского края (Homoptera, Auchenorrhyncha, Cicadellidae) // Труды Всесоюзного энтомологического общества, 1978, 60, с. 1-214.
- Бородин О.И. Цикадовые (Homoptera, Auchenorrhyncha) Беларуси. Современное состояние изученности // Материалы Международной научно-практической конференции и X зоологической конференции "Проблемы сохранения биологического разнообразия и использования биологических ресурсов" (Минск, 18-20 ноября 2009 г.). Минск, 2009, 1, с. 47-50.
- Ижевский С.С., Масляков В.Ю. Новые инвазии чужеземных насекомых в Европейскую Россию // Российский журнал биологических инвазий, 2008, 2, с. 45-54.
- Коротяев Б.А. Об изменении ареалов некоторых видов жесткокрылых (Coleoptera: Coccinellidae, Bruchidae, Curculionidae) в равнинной части северо-западного Кавказа (Россия) // Энтомологическое обозрение, 2013, 92, 3, с. 626-629.
- Тишечкин Д.Ю. Цикадовые (Homoptera, Cicadinea) Московской области // Насекомые Московской области. Проблемы кадастра и охраны. М., Наука, 1988, с. 3-19.
- Тишечкин Д.Ю. Вредитель сирени // Защита растений, 1989, 2, с. 45-46.
- Вильбасте Ю. К фауне цикадовых Приморского края. Таллин, Валгус, 1968, 180 с.
- Albrecht A., Söderman G., Rinne V., Mattila K., Mannerkoski I., Karjalainen S., Ahlroth P. New and interesting finds of Hemiptera in Finland // Sahlbergia, 2003, 8, p. 64-78.
- Anufriev G.A. New genera of palaeartic Dikraneurini (Homoptera, Cicadellidae, Typhlocybae) // Bulletin de l'Academie Polonaise des Sciences. Serie des Sciences Biologiques, 1970, 18, 5, p. 261-263.
- Dworakowska I. Fusiplate Ahmed and some other Dikraneurini (Insecta, Auchenorrhyncha, Cicadellidae: Typhlocybae) // Entomologische Abhandlungen, 1993, 55, 7, s. 97-139.
- Emeljanov A.F., Herbert Nickel. The leafhoppers and planthoppers of Germany (Hemiptera, Auchenorrhyncha): patterns and strategies in a highly diverse group of phytophagous insects. Co-published by Pensoft Publishers, Sofia-Moscow and Goecke & Evers, Keltern. Pensoft Series Faunistica, No 28. 2003. 460 pp. // Russian Entomological Journal, 2004, 13, 1-2, p. 97-99.
- Gnezdilov V.M., Sugonyaev E.S., Artokhin K.S. Arboridia kakogawana (Matsumura) (Hemiptera Cicadellidae Typhlocybae) - a new pest of grapevine in Southern Russia // Redia, 2008, 91, p. 51-54.
- Lindberg H. Zur Kenntnis der ostasiatische Homopteren. Weitere Ergebnisse einer von Y. Wuorentaus im Jahre 1917 unternommenen Forschungsreise // Commentationes Biologicae, 1929, 3, 6, p. 1-14.
- Söderman G. The eastern Palaearctic leafhopper *Igutettix oculatus* (Lindberg, 1929) in Finland: morphology, phenology and feeding (Insecta, Hemiptera, Cicadellidae, Typhlocybae) // Beiträge zur Zikadenkunde, 2005, 8, p. 1-4.
- Söderman G., Gillerfors G., Endrestöl A. An annotated catalogue of the Auchenorrhyncha of Northern Europe (Insecta, Hemiptera: Fulgoromorpha et Cicadomorpha) // Cicadina, 2009, 10, p. 33-69.

***IGUTETTIX OCULATUS* (HOMOPTERA, AUCHENORRHYNCHA, CICADELLIDAE)  
AS INVASIVE LEAFHOPPER SPECIES ON LILAC IN PARKS OF SAINT PETERSBURG  
V.M.Gnezdilov**

The data on distribution of the Far Eastern leafhopper species, *Igutettix oculatus* (Lindberg, 1929), in Europe are provided along with summarized phenological and host plant records. The necessity of monitoring this species in Saint Petersburg and Leningrad Region on decorative lilacs in city parks and squares is emphasized.

Keywords: *Igutettix oculatus*, leafhopper, invasive species, pest, lilac.

V.M.Gнездилов, к.б.н., vmgnezdilov@mail.ru

## ВРЕДНОСНЫЕ ВИДЫ ТЛЕЙ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

М.Н. Берим

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Представлены виды тлей, наиболее распространенные и вредоносные на зерновых, картофеле, горохе на северо-западе России, даны сведения об их численности. Приведены экономические пороги вредоносности для этих видов, а также рекомендуемые инсектициды.

Ключевые слова: злаковые тли, тли на картофеле, горохе, мониторинг численности, экономические пороги вредоносности.

На территории Северо-Запада европейской части России известно около 235 видов тлей (Шапошников, 1964). Тли обладают высокой миграционной активностью, большой плодовитостью, при благоприятных погодных условиях могут быстро наращивать свою численность. Часть видов обитает на сельскохозяйственных культурах, нанося последним существенный вред. При сильном повреждении растения отстают в росте, листья и стебли деформируются, желтеют. Урожайность заметно снижается.

На протяжении 16 лет (1998-2013) нами проводился мониторинг за численностью различных видов тлей-вредителей указанных выше культур с помощью всасывающей ловушки, желтых клеевых, водных ловушек, а также непосредственно на полях хозяйств западных, центральных и южных районов Ленинградской области.

На зерновых культурах основными вредящими видами выступают злаковые тли: черемухово-злаковая, большая злаковая, розанно-злаковая. Особенно вредоносна черемухово-злаковая тля *Rhopalosiphum padi* L., к тому же она является переносчиком опасного вирусного заболевания - желтой карликовости ячменя. Встречается на полях ежегодно, вспышки массового размножения отмечены в 1999 и 2002 гг.: 25-40, до 70 особей на растение при заселении 90-100% растений. Тля появляется на всходах зерновых во второй половине мая или в первой декаде июня. В большом количестве встречается в Лужском, Гатчинском, Кингисепском, Тосненском районах.

Наибольшее число насекомых этого вида во всасывающей ловушке, функционирующей на опытном поле ВИЗР с 2002 г., в течение сезона выявлено в 2003 и 2004 гг. В 2003 г. наблюдалась активная миграция вида на черемуху в августе и сентябре (отловлено 248 особей). Было отложено большое количество яиц на первичного хозяина: 45-58 на 100 почек черемухи при заселении 70% кустов. Предполагалась массовая вспышка объекта в 2004 г., однако сильные и продолжительные заморозки в мае значительно

снизили численность насекомого. За весенний период в ловушке было отловлено 148 особей. На яровых пшенице и ячмене отмечено до 12 особей на растение при заселении 50-65% растений - несколько выше экономического порога вредоносности (10 насекомых на растение при заселении 50% растений) (Тосненский район). Изначально численность предполагалась более высокой. В полевых условиях оценку количества тлей следует проводить либо с использованием 9-балльной шкалы, либо подсчетом насекомых на модельных растениях (Берим, Радченко, 2012).

Большая злаковая тля *Sitobion avenae* F. в Северо-Западном регионе появляется чаще в последней декаде июня, пик численности приходится на I-II декады июля, количество насекомых на полях зерновых культур не превышает ЭПВ (5-10 особей на растение при заселении 50% растений). Больше всего особей данного вида было отловлено всасывающей ловушкой в 2003, 2004 и 2009 гг. В 2009 г. на 1 модельное растение приходилось до 9 особей, местами до 12-14. На посевах ячменя и пшеницы в 2011 г. количество особей на одно модельное растение варьировало от 2 до 14 при заселении 51% растений, в 2012 - 4-17 при заселении до 62% растений.

Розанно-злаковая тля *Metopolophium dirhodum* Walk. в регионе малочисленна и экономического значения не имеет.

Виды тлей, встречающиеся на картофеле в регионе: *Macrosiphum euphyorbiae* Thomas, *Myzodes persicae* Sulzer, *Aphis fabae* Scop., *Aulacorthum Solani* Kalt., *Aphis nasturtii* Kalt.

Наиболее многочисленна на картофельных полях на северо-западе бобовая тля *Aph. fabae*. На ловушки в течение вегетационного сезона 2013 года было отловлено более 40 особей, преимущественно в июле; в 2012 - всего 7 особей (Гатчинский район). Во всасывающей ловушке число отловленных тлей доходило до 20 (2005 и 2008 гг.). В 2008 г. количество насекомых на по-

лях достигало 12-16 особей на растение при заселении более 25% растений. Достаточно часто встречалась также большая картофельная тля *M. euphorbiae*: в 2012, 2013 гг. ловушками выловлено более 15 особей. Единично на полях встречается персиковая тля *M. persicae*, во всасывающей ловушке в 2002 году отмечено 12 особей. В последние годы существенно увеличилась численность крушинной тли *Aph. nasturtii*: в 2012-2013 гг. ловушками отловлено 30 и 35 особей, соответственно, а также обыкновенной картофельной тли *Aulacorthum solani*. На семенных посевах картофеля даже при единичных особях тли рекомендованы обработки инсектицидами. Следует применять препараты из различных групп химических соединений: пиретроиды, фосфорорганические соединения, неоникотиноиды, биологические препараты (Долженко, Сухорученко, 2009).

Наибольшая численность тлей на картофеле отмечается в Лужском, Кингисеппском, Гатчинском, Волосовском районах. Мониторинг за фитофагами можно проводить с помощью водных и желтых клеевых ловушек, визуальным подсчетом количества тлей на 100 листьях. Листья при этом выбираются из разных ярусов, по листу с растения, желательно по диагоналям поля.

Берим М.Н., Радченко Е.Е. Методы мониторинга и учета злаковых тлей // Методы фитосанитарного мониторинга и прогноза. ВИЗР, СПб, 2012, с. 28-42.

Брянцева Е.В. К оценке энтомофауны картофеля в Ленинградской области на наличие переносчиков вирусов // Науч. тр. Сев.-Зап. НИИ сельского хозяйства. Л., 1976, 36, с. 98.

Дамрозе И.П. Вирусы растений и насекомых // Труды ЛСХИ, 1993, вып. 276, с. 56.

Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и ро-

А.Г.Зыкиным (1976) разработана шкала, характеризующая численность вредителя: низкая-до 100 особей на 100 листьев; от 100 до 300 - относительно низкая; 300-500 особей - средняя; высокая - 800-1500; очень высокая - выше 1500. Годы с высокой численностью вредителя, а также большим числом зараженных вирусной инфекцией растений: 1978, 1988, 1989, 1990 (Брянцева, 1976; Дамрозе, 1993), а также 2002 г.

На посевах гороха наиболее часто встречаются гороховая *Acyrtosiphum pisum* Hart. и бобовая *Aph. fabae* тли. В 2008 г. число особей первого вида достигало 5-11 на одно растение, второго - до 20-35 при заселении до 25% растений. Существенной численность насекомых была в 2002 году. Гороховая тля наиболее многочисленна в ловушке была в 2002 и 2004 гг. Химические обработки на горохе проводят при заселении колониями тлей до 25% листовой поверхности при колонизации 15-20% растений (Танский, 1985). Рекомендуемые препараты: неоникотиноиды, пиретроиды и др.

Тли - переносчики вирусов: *Aphis fabae* Scop., *Aphis nasturtii* Kalt., *Aulacorthum solani* Kalt., *Brachycaudus cardui* L., *Cavariella aegopodii* Scop., *Lipaphis erysmi* Kalt., *Macrosiphum euphorbiae* Thomas, *Rhopalosiphum padi* L., *Sitobion avenae* F.

#### Литература

дентицидов в сельском хозяйстве. Под ред. В.И.Долженко, Г.И.Сухорученко и др. СПб, ВИЗР, 2009, 378 с.

Зыкин А.Г. Вирусные болезни картофеля. Л., 1976, 152 с.

Танский В.И. Применение экономических порогов вредоносности главных вредителей основных сельскохозяйственных культур. Методические указания. ВИЗР, Л., 1985, 27 с.

Шапошников Г.Х. Подотряд Aphidinea - тли // Определитель насекомых Европейской части СССР, 1964, 1, с. 489-616.

#### HARMFUL APHID SPECIES IN LENINGRAD REGION

The most widespread and harmful aphid species on grain, potato and pea in the Northwest of Russia are reviewed; and information on their numbers is provided. Economic harmfulness thresholds and recommended insecticides for these species are listed.

Keywords: *aphid, cereal, potato, pea, monitoring, economic harmfulness thresholds.*

М.Н.Берим, к.б.н., berim\_m@mail.ru

## Содержание

СВОЙСТВА НАТИВНЫХ И РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНАЗ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ КЛОПА ВРЕДНАЯ ЧЕРЕПАШКА ( <i>EURYGASTER INTEGRICEPS</i> PUT.), ГИДРОЛИЗУЮЩИХ КЛЕЙКОВИНУ ПШЕНИЦЫ. <i>Ал.В.Конарев, В.В.Долгих, И.В.Сендерский, Л.И.Нефедова, А.В.Конарев, Н.К.Губарева</i>	3
ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РЕАКТИВНОСТЬ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ВРЕДНОЙ ЧЕРЕПАШКИ. <i>Л.И.Нефедова, А.В.Капусткина</i>	17
СОВРЕМЕННАЯ ФИТОСАНИТАРНАЯ СИТУАЦИЯ ПО СТАДНЫМ САРАНЧОВЫМ НА СТАВРОПОЛЬЕ <i>В.Г.Коваленков, О.В.Кузнецова, Н.М.Тюрина, Ю.В.Никитенко</i>	23
МИКОБИОТА ДРЕВЕСИНЫ ИСТОРИЧЕСКИХ ПАМЯТНИКОВ АРХИТЕКТУРЫ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ КОНТРОЛЯ С ПОМОЩЬЮ ФУНГИЦИДОВ. <i>Т.А.Серова, Ю.А.Титова</i>	33
ЭКОНОМИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ АВТОМАТИЗАЦИИ РАСЧЕТА НА ЭВМ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ЭНТОМОФАГОВ <i>Н.Р.Гончаров, А.В.Тимофеев, Н.И.Воробьев</i>	38
ИНТРОДУКЦИЯ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ ДЛЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПОДАВЛЕНИЯ АМБРОЗИИ ПОЛЫННОЛИСТНОЙ ( <i>AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA</i> L.) В РОССИИ: РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ ОБЗОР. <i>Л.П.Есипенко, А.С.Замотайлов</i>	43
ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ИНСЕКТИЦИДЫ В БОРЬБЕ СО СВЕКЛОВИЧНЫМ ДОЛГОНОСИКОМ-СТЕБЛЕЕДОМ. <i>Т.И.Васильева, Л.А.Буркова</i>	47
МИКРОМИЦЕТЫ В ПОЧВАХ БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ ПОД БОБОВЫМИ КУЛЬТУРАМИ. <i>Ю.Н.Куркина, Нгуен Тхи Лан Хыонг</i>	51
УРОЖАЙНОСТЬ И ПОРАЖАЕМОСТЬ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ БОЛЕЗНЯМИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УРОВНЯ ЗАСОЛЕННОСТИ ПОЧВЫ И МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ. <i>Г.А.Новрузлу</i>	55
ФИТОСАНИТАРНЫЙ МОНИТОРИНГ ПОЧВ АГРОЛАНДШАФТОВ КУРГАНСКОЙ ОБЛАСТИ. <i>В.Евсеев</i>	58
ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, УСТОЙЧИВЫЙ К СЕТЧАТОМУ ГЕЛЬМИНТОСПОРИОЗУ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ <i>О.Г.Калантаевская, Г.А.Муругова</i>	64
<b><u>Краткие сообщения</u></b>	
СОРТОВАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ ГИДРАНГЕИ КРУПНОЛИСТНОЙ К ГОЛЫМ СЛИЗНЯМ И МУЧНИСТОЙ РОСЕ В СУБТРОПИКАХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ <i>Н.Н.Карпун, В.И.Малыаровская</i>	67
РОЛЬ КАРАНТИННЫХ ВИДОВ В ЗАСОРЕНИИ ПОЛЕВЫХ КУЛЬТУР СТЕПНОЙ ЗОНЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ. <i>Т.Ю.Закота</i>	69
ВРЕДИТЕЛИ КУНЖУТА В УСЛОВИЯХ БОГАРЫ <i>Ф.А.Гаппаров, Ш.Б.Аманов</i>	72
IGUTETTIX OCULATUS (НОМОПТЕРА, AUCHENORRHYNCHA, SICADELLIDAE) - ИНВАЗИВНЫЙ ВИД ЦИКАДКИ НА СИРЕНИ В ПАРКОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА. <i>В.М.Гнездилов</i>	74
ВРЕДНОСНЫЕ ВИДЫ ТЛЕЙ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ. <i>М.Н.Берим</i>	77

## Contents

PROPERTIES OF NATURAL AND RECOMBINANT SUNN PEST (EURYGASTER INTEGRICEPS) SALIVARY GLAND PROTEINASES HYDROLYZING WHEAT GLUTEN <i>Al.V.Konarev, V.V.Dolgikh, I.V.Senderskii, L.I.Nefedova, A.V.Konarev, N.K.Gubareva</i>	3
CYTOPHYSIOLOGICAL REACTIVITY OF WHEAT GRADES TO SUNN PEST (EURYGASTER INTEGRICEPS) HARMING ACTIVITY. <i>L.I. Nefedova, A.V. Kapustkina</i>	17
PRESENT PHYTOSANITARY SITUATION WITH GREGARIOUS LOCUSTS IN STAVROPOL TERRITORY. <i>V.Kovalenkov, O.Kuznetsova, N.Tyurina, Yu.Nikitenko</i>	23
MYCOBIOTA ON THE HISTORICAL WOOD BUILDINGS OF SAINT PETERSBURG AND THE OPPORTUNITY OF ITS CONTROL BY FUNGICIDES. <i>T.A.Serova, Yu.A.Titova</i>	33
ECONOMIC AND MATHEMATICAL MODEL TO AUTOMATE THE CALCULATION OF ECONOMIC INDICATORS OF ENTOMOPHAGE PRODUCTION <i>N.R.Goncharov, A.V.Timofeev, N.I.Vorobyov</i>	38
INTRODUCTION OF PHYTOPHAGOUS INSECTS FOR BIOLOGICAL SUPPRESSION OF COMMON RAGWEED (AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA L.) IN RUSSIA: RETROSPECTIVE OVERVIEW. <i>L.P.Esipenko, A.S.Zamotailov</i>	43
PROMISING INSECTICIDES FOR THE SUGAR BEET BEETLE CONTROL <i>T.I.Vasilyeva, L.A.Burkova</i>	47
SOIL MICROMYCETES UNDER LEGUME PLANTS IN BELGOROD REGION <i>Yu.N.Kurkina, Nguyen Thi Lan Huong</i>	51
ASSESSMENT OF RESISTANCE OF BARLEY VARIETIES TO DISEASES DEPENDING ON SOIL SALINIZATION AND MINERAL NUTRITION. <i>G.A.Novruzlu</i>	55
PHYTOSANITARY SOIL MONITORING IN AGRICULTURAL LANDSCAPES OF KURGAN REGION. <i>V.V.Evseyev</i>	58
INITIAL MATERIAL OF SPRING BARLEY RESISTANT TO NET BLOTCH IN CONDITIONS OF PRIMORSKY TERRITORY <i>O.G.Kalantayevskaya, G.A.Murugova</i>	64
<b><i>Brief Reports</i></b>	
RESISTANCE OF <i>HYDRANGEA MACROPHYLLA</i> VARIETIES TO SLUGS AND POWDERY MILDEW IN SUBTROPICS OF KRASNODAR TERRITORY <i>N.N.Karpun, V.I.Malyarovskaya</i>	67
ROLE OF QUARANTINE WEED SPECIES IN CONTAMINATION OF FIELD CROPS OF STEPPE ZONE OF KRASNODAR TERRITORY. <i>T.Yu.Zakota</i>	69
PESTS OF SESAME IN DRY-FARMING LAND CONDITIONS <i>F.A.Gapparov, Sh.B.Amanov</i>	72
<i>IGUTETTIX OCULATUS</i> (HOMOPTERA, AUCHENORRHYNCHA, CICADELLIDAE) AS INVASIVE LEAFHOPPER SPECIES ON LILAC IN PARKS OF SAINT PETERSBURG <i>V.M.Gnezdilov</i>	74
HARMFUL APHID SPECIES IN LENINGRAD REGION. <i>M.N.Berim</i>	77