

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений”
(ФГБНУ ВИЗР)

ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

3(89) – 2016

Санкт-Петербург – Пушкин
2016

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

УДК 632

Научно-теоретический рецензируемый журнал

Основан в 1939 г.

Издание возобновлено в 1999 г.

Включен в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК
как журнал, входящий в международную базу данных AGRIS

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 РАН, СибНИИЗХим

Патрик Гроотаерт, доктор наук, Бельгия

Дзянь Синьфу, профессор, КНР

В.И.Долженко, академик РАН, ВИЗР

Ю.Т.Дьяков, дбн, профессор, МГУ

В.А.Захаренко, академик РАН, МНИИСХ

С.Д.Каракотов, чл.корр. РАН,

 ЗАО Щелково Агротех

В.Н.Мороховец, кбн, ДВНИИЗР

В.Д.Надыкта, академик РАН, ВНИИБЗР

В.А.Павлюшин, академик РАН, ВИЗР

С.Прушински, дбн, профессор, Польша

Т.Ули-Маттила, профессор, Финляндия

Е.Е.Радченко, дбн, ВИР

И.В.Савченко, академик РАН, ВИЛАР

С.С.Санин, академик РАН, ВНИИФ

С.Ю.Синев, дбн, ЗИН

К.Г.Скрябин, академик РАН, "Биоинженерия"

М.С.Соколов, академик РАН, ВНИИФ

С.В.Сорока, ксхн, Белоруссия

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

О.С.Афанасенко,

 член-корреспондент РАН

И.А.Белоусов, кбн

Н.А.Белякова, кбн

Н.А.Вилкова, дсхн, проф.

Н.Р.Гончаров, ксхн

И.Я.Гричанов, дбн

А.Ф.Зубков, дбн, проф.

В.Г.Иващенко, дбн, проф.

М.М.Левитин, академик РАН

Н.Н.Лунева, кбн

А.К.Лысов, ктн

Г.А.Наседкина, кбн

В.К.Моисеева (секр.), кбн

Н.Н.Семенова, дбн

Г.И.Сухорученко, дсхн, проф.

С.Л.Тютерев, дбн, проф. А.Н.Фролов,

дбн, проф.

И.В.Шамшев, кбн

Редакция

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

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

Email: vestnik@vizr.spb.ru

www.vizr.spb.ru

© Всероссийский НИИ защиты растений (ВИЗР)

Номер содержит материалы конференции

«ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОВРЕМЕННЫХ АГРОТЕХНОЛОГИЙ»

Организаторы

Всероссийский НИИ защиты растений

Санкт-Петербургский союз ученых

Программный комитет конференции

Председатель: академик РАН Павлюшин Владимир Алексеевич

профессор Леон Оттен

академик НАН РК Сагитов Абай Оразович

академик РАН Левитин Марк Михайлович

чл.корр. РАН Афанасенко Ольга Сильвестровна

Организационный комитет

Сокорнова С.В., Леднев Г.Р., Токарев Ю.С., Сайфитдинова А.Ф.

СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие участникам конференции Инге-Вечтомов С.Г.	14
<u>Краткие сообщения</u>	
Устойчивость образцов ячменя из Дагестана к мучнистой росе Абдуллаев Р.А., Алпатъева Н.В., Баташева Б.А., Анисимова И.Н., Радченко Е.Е.	15
Влияние экзометаболитов фитопатогенов р. <i>Fusarium</i> на морфофизиологические особенности каллусных культур изогенных по генам <i>VRN</i> линий пшеницы Авксентьева О.А., Терентьева Н.В.	16
Эффективность продуктов метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод в северо-западном регионе России Агансонова Н.Е.	18
Антагонистическое действие коллекционных штаммов бактерий на некоторые виды фитопатогенных микроорганизмов Алексеев Н.В.	19
Применение препарата Псевдобактерин-3 на озимой пшенице в условиях Западного Предкавказья Андросова В.М., Диденко А.О.	20
Характеристика по устойчивости к особо опасным листовым болезням образцов пшеницы из коллекции ВИР Баранова О.А., Коваленко Н.М., Хакимова А.Г., Митрофанова О.П.	22
Поиск адаптивных изменений, связанных с устойчивостью к обитанию в условиях высокогорий: высокопроизводительное секвенирование и сравнительный анализ последовательностей хлоропластных геномов из нескольких видов рода <i>Allium</i> Беленикин М.С., Криницына А.А., Логачева М.Д., Купцов С.В., Сперанская А.С.	23
Жасмонат-индуцированная система мобильного раневого сигнала растения картофеля модулирует активность инсектицидов Беньковская Г.В., Марданшин И.С.	24
Содержание полифенолов в каллусных культурах клюквы болотной при модификации питательной среды цитокининами и препаратами микромицетов Березина Е.В., Агеева М.Н., Брилкина А.А., Веселов А.П.	26
Ареал и зоны вредоносности большой картофельной тли <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas) (Homoptera, Aphididae, Macrosiphum) Берим М.Н., Саулич М.И.	27
Устойчивость к стрессу как фактор акклиматизации <i>Harmonia axyridis</i> (Coccinellidae, Coleoptera) Биницкая Н.В., Белякова Н.А.	29
Вторичные метаболиты актиномицетов – основа для создания новых инсектицидных биопрепаратов Бойкова И.В.	30
Биологическая активность производных феосферидина А, метаболита гриба <i>Paraphoma</i> sp. Большакова К.П., Абзианидзе В.В., Берестецкий А.О.	32
Комплекс АФК-регулирующих ферментов в защите растений пшеницы при инфицировании септориозом Бурханова Г.Ф., Каримов А.А., Максимов И.В.	33
Регуляция роста растений метаболитами стрептомицетов почв Молдовы и перспективы их применения Бурцева С.А., Маслроброд С.Н., Акири И.Г., Братухина А.А., Бырса М.Н.	35
Антагонизм бактерий р. <i>Bacillus</i> и р. <i>Streptomyces</i> почв Молдовы к возбудителям болезней сельскохозяйственных растений Бурцева С.А., Шубина В.Э., Бырса М.Н., Березюк Ю.Н.	36
Иммунологическая оценка образцов пшеницы, ее редких видов, эгилопса из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова и отбор источников с групповой устойчивостью Волкова Г.В., Кремнева О.Ю., Шумилов Ю.В., Гладкова Е.В., Ваганова О.Ф., Митрофанова О.П., Лысенко Н.С., Чикида Н.Н., Хакимова А.Г., Зуев Е.В.	38
Влияние вращающихся магнитных полей на спин-конформацию сигнальных молекул и на микробно-растительные взаимодействия с участием этих молекул Воробьев Н.И., Пухальский Я.В., Свиридова О.В., Пищик В.Н., Белимов А.А., Толмачев С.Ю.	39
Устойчивость к имидаклоприду у тлей <i>Aphis gossypii</i> , ассоциированных с разными кормовыми растениями Воробьева М.М., Воронова Н.В.	41

Создание удвоенных гаплоидных линий моркови столовой (<i>Daucus carota</i> L.) с использованием биотехнологических методов Вюртц Т.С., Шмыкова Н.А., Федорова М.И., Заячковская Т.В., Домблдес Е.А.	43
Биология взаимоотношений грибов рода <i>Fusarium</i> и насекомых Гагкаева Т.Ю.	44
Сравнительная оценка инфицированности грибами <i>Fusarium</i> зерна диких видов рода <i>Avena</i> L. с помощью количественной ПЦР Гагкаева Т.Ю., Гаврилова О.П., Блинова Е.В., Лоскутов И.Г.,	46
К микобиоте сорных и дикорастущих травянистых растений Северной Осетии Гасич Е.Л., Ганнибал Ф.Б., Берестецкий А.О., Хлопунова Л.Б.	47
Особенности культивирования <i>Paranosema locustae</i> (Opisthosporidia: Microsporidia) в <i>Locusta migratoria</i> (Insecta: Orthoptera) Герус А.В., Сендерский И.В., Левченко М.В., Закота Т.А., Токарев Ю.С.	48
Биоинформационные технологии в оценке цикла углерода в управляемых техногенных лесах Приморского края Голубев Д.А., Филатова М.Ю., Крупская Л.Т.,	50
Проблемы идентификации грибов рода <i>Phoma sensu lato</i> в условиях чистой культуры Гомжина М.М.	52
Полиморфизм нуклеотидной последовательности митохондриального гена COI популяций видов-двойников рода <i>Ostrinia</i> (Lepidoptera: Pyraloidea) Грушечкина И.В., Малыш Ю.М., Конончук А.Г., Фролов А.Н.	53
Полиморфизм гриба <i>Puccinia triticina</i> по вирулентности и микросателлитным локусам на видах пшеницы и эгилопе Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Аристова М.К., Казарцев И.А.	54
Структура популяций <i>Puccinia triticina</i> в европейских регионах России Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Аристова М.К., Казарцев И.А.	56
Использование клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых растений Южного Урала в качестве основы для биоудобрений Гуменко Р.С., Иванова Е.С., Саргалиева Г.М., Баймиев Ан.Х.	57
Предварительные результаты изучения наездников-триоксин (Hymenoptera: Aphidiidae: Trioxinae) из коллекции Зоологического института РАН Давидьян Е.М.	58
Биосинтетический потенциал микроскопических грибов Далинова А.А., Волосатова Н.С., Берестецкий А.О.	60
Использование биопрепаратов для борьбы с вредными насекомыми в органическом земледелии Доброхотов С.А., Анисимов А.И.	61
Защита зерновых культур от болезней в органическом земледелии Доброхотов С.А., Чернявина Н.В., Анисимов А.И.	62
Использование современных методов молекулярной и клеточной биологии в области защиты растений Долгих В.В., Сендерский И.В., Тимофеев С.А., Царев А.А., Митина Г.В., Рогожин Е.А.	64
ДНК-анализ сортов озимого и ярового тритикале, районированных на территории Республики Беларусь, на наличие генов устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчине Долматович Т.В., Булойчик А.А.	65
Изучение антифунгальной активности бактерий рода <i>Bacillus</i> из мерзлых отложений Западной Сибири Доманская О.В., Колоколова Н.Н., Франк Я.В.	67
Межвидовая гибридизация салата (<i>Lactuca sativa</i> L.) в селекции на устойчивость к <i>Tomato aspermy cucumovirus</i> Енгальчева И.А., Павлова О.В.	68
Разработка методической схемы контроля гаметного происхождения регенерантов капусты белокочанной (<i>Brassica oleracea</i> L.) в культуре пыльников <i>in vitro</i> путем ДНК-генотипирования Епифанович Н.В., Мухина Ж.М., Савенко Е.Г., Королева С.В., Глазырина В.А., Шундрин Л.А., Епифанович Ю.В.	70
Оценка сортов картофеля на устойчивость к черной ножке Ертаева Б.А.	71
Фитофтороустойчивость образцов мексиканских диких видов картофеля и их гибридов к трем изолятам <i>Phytophthora infestans</i> Зотеева Н.М.	72

Характеристика образцов новейших поступлений яровой мягкой пшеницы коллекции ВИР по устойчивости к грибным болезням Зуев Е.В., Лебедева Т.В., Ковалева М.М., Брыкова А.Н., Тырышкин Л.Г.	74
Генетическая характеристика клубеньковых бактерий бобовых растений <i>Lupinaster</i> sp. Иванова Е.С., Гуменко Р.С., Саргалиева Г.М., Баймиев А.Х.	75
Оценка восприимчивости <i>Galleria mellonella</i> (Lepidoptera: Pyraloidea) к заражению энтомопатогенными микроспоридиями пяти видов Игнатьева А.Н., Воронцова Я.Л., Ярославцева О.Н., Грушечная И.В., Токарев Ю.С.	76
Вырождение (деградация) яблони сорта Апорт как болезнь неинфекционного характера и пути его предотвращения Исин М.М.	78
Фитосанитарное конструирование агроценозов как основа беспестицидной защиты озимой пшеницы от комплекса доминантных вредителей в системе органического земледелия Исмаилов В.Я., Ширинян Ж.А., Пушня М.В., Умарова А.О.	79
Особенности действия Иммуноцитифита на западного цветочного трипса при обработке огурца посевого Кириллова О.С.	81
Личинки жулици (Coleoptera, Carabidae) в агроценозах картофеля и других культур Коваль А.Г., Гусева О.Г.	82
Устойчивость образцов ячменя из коллекции ICARDA (Сирия) к возбудителям сетчатой и окаймленной пятнистостей Коновалова Г.С., Ковалева О.Н.	83
Вирулентность кыргызстанских природных изолятов анаморфных аскомицетов в отношении личинок колорадского жука Конурова Д.С., Левченко М.В., Тургунбаев К.Т., Смагулова Ш.Б., Успанов А.М., Леднёв Г.Р.	85
Повышение устойчивости риса к пирикулярии путем пирамидирования нескольких генов с маркерным контролем Костылев П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., Мухина Ж.М., Дубина Е.В.	86
Использование биотехнологии в решении природоохранных проблем в ДФО Крупская Л.Т., Голубев Д.А., Филатова М.Ю.	87
Энтомопатогенный штамм <i>Bacillus thuringiensis</i> 787 Крыжко А.В., Кузнецова Л.Н.	89
Мобилизация ортофосфата кальция бактериями родов <i>Advenella</i> и <i>Pseudomonas</i> Кузьмина Л.Ю., Гуватова З.Г., Ионина В.И., Галимзянова Н.Ф., Мелентьев А.И.	90
Анализ влияния ризобияльных экзополисахаридов на семена и проростки клевера красного (<i>Trifolium pratense</i>) Лавина А.М., Нигматуллина Л.Р., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х.	91
Энтомопатогенные грибы в популяциях жуков-короедов в предгорьях Заилийского Алатау Леднёв Г.Р., Абдукерим Р., Успанов А.М., Сабитова М.Н., Каменова А.С., Левченко М.В., Дуйсембеков Б.А.	93
Изучение рецепторов, контролирующих развитие устойчивости гороха к фитопатогенам и симбиоз с грибами арбускулярной микоризы Леппянен И.В., Вишневская Н.А., Долгих Е.А.	94
Влияние <i>Bacillus megaterium</i> 501 на рост растений кукурузы в условиях стресса Лисина Т.О., Круглов Ю.В.	95
Наследование устойчивости к милдью гибридным потомством винограда, скрещивания бессемянного направления Майстренко Л.А.	97
Наследование устойчивости к милдью гибридным потомством технических сортов винограда селекции ВНИИВиВ Майстренко А.Н., Майстренко Л.А., Дуран Н.А.	98
Идентификация штаммов агробактерий в пораженных бактериальным раком ампелоценозах Анапо-Таманской зоны Краснодарского края Макаркина М.В., Владимиров И.А., Ильницкая Е.Т., Матвеева Т.В.	100
Встречаемость микроспоридий в симпатрических популяциях стеблевых мотыльков рода <i>Ostrinia</i> Мальш Ю.М., Грушечная И.В., Токарев Ю.С., Конончук А.Г., Фролов А.Н.	101
Биологическая эффективность некротического барьера в защите картофеля от колорадского жука Марданшин И.С., Беньковская Г.В.	102

Оценка и отбор инбредных линий капусты белокочанной на комплексную устойчивость к болезням и вредителям Маслова А.А., Ушаков А.А., Старцев В.И., Бондарева Л.Л.	104
Молекулярно-генетические подходы к изучению разнообразия кЛТ-ДНК природно-трансгенных видов растений на примере <i>Linaria</i> и <i>Nicotiana</i> Матвеева Т.В., Хафизова Г.В., Лутова Л.А.	105
Не совсем трансгенные растения Матвеева Т.В.	106
Бактерии рода <i>Pseudomonas</i> как перспективные агенты биологического контроля заболеваний и роста урожайности в сельском хозяйстве Миннебаев Л.Ф.	108
Генетическая специализация <i>Pyrenophora teres</i> f. <i>teres</i> к новому растению-хозяину – пшенице Мироненко Н.В., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А.	109
Влияние летучих метаболитов энтомопатогенных грибов на поведенческую реакцию сосущих насекомых Митина Г.В., Степанычева Е.А., Петрова М.О., Чоглокова А.А., Леднёв Г.Р.	110
Создание трансгенных растений методом погружения цветков и оценка возможности передачи трансгенов от рапса к родственным растениям Михайлова Е.В., Денисов А.М.	111
Реакция перспективных сортов томата на культуральные фильтраты грибов <i>Alternaria alternata</i> и <i>Fusarium</i> spp. Михня Н., Лупашку Г., Григорча С.	113
Влияние формирования куста розы на динамику паутинного клеща <i>Tetranychus urticae</i> Koch. и хищного клеща <i>Phytoseiulus persimilis</i> Ath.-Henr. в условиях малообъемной гидропоники в ООО «Агролидер» Моор В.В., Козлова Е.Г.	115
Эффективность индукции мутаций по устойчивости к основным заболеваниям у пшеницы озимой мягкой Назаренко Н.Н.	116
Оценка влияния конститутивной экспрессии гена <i>rapA1</i> в клетках микросимбионта <i>R. leguminosarum</i> PVu5 на эффективность образования клубеньков, нитрогеназную активность, биомассу и ростовые параметры растений фасоли обыкновенной Нигматуллина Л.Р., Лавина А.М., Сербеева Э.Р., Вершинина З.Р., Баймиев Ал.Х.	118
Выявление и идентификация бактериального рака томата методом ПЦР в формате Flash Низамдинова Г.К.	119
Биологическое разнообразие микроорганизмов – основа для создания новых полифункциональных биопрепаратов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем Новикова И.И.	120
Потенциал бактерий родов <i>Halomonas</i> и <i>Pseudomonas</i> в деградации системного гербицида 2,4-дихлорфеноксисукусной кислоты Нурушева Л.М., Васильева А.М., Гильванова Е.А.	122
Преимущества использования инструментов молекулярной биологии и генетики в защите растений Ныгыметова А.М.	123
Автоматизированные методы зонирования посевов подсолнечника по степени фитосанитарного риска выращивания культуры Овсянникова Е.И., Гричанов И.Я., Саулич М.И., Якуткин В.И.	124
Новая парадигма развития защиты растений и ее концептуальное научно-практическое решение Павлюшин В.А., Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Тютерев С.Л., Нефедова Л.И.	126
Разработка тест-системы на основе ПЦР для видовой идентификации жертвы по содержимому кишечника хищных клопов семейства Miridae (Insecta: Heteroptera) Пазюк И.М., Малыш Ю.М., Токарев Ю.С.	127
Защитные реакции <i>Galleria mellonella</i> при заражении энтомопатогенным грибом <i>Lecanicillium muscarium</i> Первушин А.Л., Крюков В.Ю., Митина Г.В., Томилова О.Г.	129
Определение оптимального срока обработки Альбитом, ТПС вегетирующих растений озимой пшеницы сорта Калым Подварко А.Т., Сковпень Л.Н., Злотников А.К.	130
Влияние различных температурных режимов на течение грибных и бактериальных болезней насекомых Поленогова О.В., Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Томилова О.Г., Гризанова Е.В., Аханаев Ю.Б., Дубовский И.М., Глупов В.В.	131
Критерии отбора новых видов и популяций энтомофагов для защиты растений в оранжереях ботанических садов Поликарпова Ю.Б., Варфоломеева Е.А.	133

Оптимизация условий культивирования гриба <i>Paraphoma</i> sp. ВИЗР 1.46 для получения фитотоксического метаболита Полужтова Е.В., Большакова К.П., Берестецкий А.О.	134
Гербицидная активность феосфериды А, фитотоксического метаболита гриба <i>Paraphoma</i> sp. ВИЗР 1.46 и оценка возможности её повышения за счёт совместного применения с адьювантами Полужтова Е.В., Берестецкий А.О.	135
Зависимость иммуномодулирующих свойств салициловой кислоты и ванилина от их концентрации в патосистеме растения пшеницы – возбудитель темнобурой пятнистости <i>Cochliobolus sativus</i> (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur Попова Э.В., Коваленко Н.М., Сокорнова С.В., Домнина Н.С., Тютюрев С.Л.	136
Влияние комплекса бета-циклодекстрина с элементной серой на рост пшеницы Пудова Е.А., Гильванова Е.А.	137
Новый штамм <i>Pseudomonas koreensis</i> ИБ-4. Перспективы его использования в сельскохозяйственной практике Рафикова Г.Ф.	139
Эффективность применения биофунгицида Витаплан на яровом ячмене в условиях северо-запада Нечерноземной зоны Рогожникова Е.С., Шпанев А.М.	140
Использование метода <i>in vitro</i> в селекции пшеницы Россеев В.М., Белан И.А., Россеева Л.П.	142
Роль активных форм кислорода во взаимодействии растений пшеницы и злаковой тли <i>Schizaphis graminum</i> при участии эндофитных бактерий рода <i>Bacillus</i> Румянцев С.Д., Бурханова Г.Ф., Веселова С.В., Максимов И.В.	143
Полусинтетические экистероиды в регуляции жизнедеятельности насекомых Савченко Р.Г., Костылева С.А., Одинокоев В.Н., Парфенова Л.В., Федотов А.Д., Ахметкиреева Т.Т., Беньковская Г.В.	145
Перспективы разработки и применения биологических препаратов в защите растений от вредителей в Казахстане Сагитов А.О., Успанов А.М., Каменова А.С., Слямова Н.Д., Дуйсембеков Б.А., Глупов В.В., Леднёв Г.Р.	146
Выявление устойчивых к альтернариозу генотипов томата методами пыльцевого анализа Салтанович Т.И., Антоц Л.П.	147
Наследование устойчивости реципрочных гибридов <i>Triticum aestivum</i> L к культуральному фильтрату патогена <i>Helminthosporium avenae</i> Eidam Сашко Е.Ф.	149
Влияние летучих соединений энтомопатогенных грибов на поведенческие реакции вредителей запасов Селицкая О.Г., Митина Г.В., Щеникова А.В., Чоголокова А.А., Левченко М.В.	150
Ионы тяжёлых металлов <i>in vitro</i> : новые идеологии для получения генетически изменённых форм растений Сергеева Л.Е., Бронникова Л.И.	152
Влияние агониста АБК – пирабактина – на рост, продуктивность и устойчивость растений пшеницы и гороха Синицына Ю.В., Якунина А.В., Крутова Е.К., Сухов В.С., Веселов А.П.	153
Эколого-генетическая характеристика изолята <i>Metarhizium</i> sp. ММВ Сокорнова С.В., Ярославцева О.Н., Александрова А.В., Леднёв Г.Р., Борисов Б.А.,	155
Маркеры генов <i>Pl</i> , <i>Or</i> , <i>AHASI</i> для использования в селекции подсолнечника на устойчивость к ложной мучнистой росе, заразихе и гербицидам Солоденко А.Е., Вареник Б.Ф.	156
Роль симбиотических микроорганизмов растений картофеля и колорадского жука во взаимодействии растения-хозяина и фитофага Сорокань А.В., Беньковская Г.В., Благова Д.К., Максимова Т.И., Максимов И.В.	158
Анисовый альдегид как потенциальный аттрактант для энтомофагов Степаньчева Е.А., Петрова М.О., Черменская Т.Д.	159
Перспективность использования гриба <i>Trichoderma virens</i> для стимуляции роста адаптируемых микрорастений клюквы крупноплодной Стручкова И.В., Юрлова А.В., Брилкина А.А., Березина Е.В.	160
Мониторинг резистентности колорадского жука к инсектицидам в модельных агроценозах картофеля Сыртланова Л.А., Китаев К.А., Беньковская Г.В.	161
Выявление доноров передачи признака высокой милдьюустойчивости красным техническим сеянцам винограда Сьян И.Н., Кологривая Р.В., Арестова Н.О.	163

Эффективность добавления в среду Мурасиге-Скуга измельченного шунгита при выращивании микрорастений картофеля Тимейко Л.В., Кузнецова Л.А.	164
Мультибиоконверсия отходов техногенной сферы съедобными грибами Титова Ю.А.	166
Мониторинг развития болезней зерновых культур в Тюменской области Тоболова Г.В., Фуртаев К.В., Кабанин И.Б.	168
Оценка иммунизирующего действия микробной хитиназы в отношении ризоктониоза картофеля Томилова О.Г., Дужак А.Б.	170
Модификационная изменчивость вирулентности облигатных фитопатогенов злаков: выводы и следствия Тырышкин Л.Г.	171
Усовершенствование метода приманок для выделения энтомопатогенных аскомицетов (<i>Ascomycota</i> , <i>Hypocreales</i>) из почв Тюрин М.В., Крюков В.Ю., Томилова О.Г., Ярославцева О.Н., Крюкова Н.А., Глупов В.В.	173
Фауна, трофические связи и распространение галлиц (<i>Diptera</i> , <i>Cecidomyiidae</i>), развивающихся в колониях клещей (<i>Acarina</i>) Федотова З.А.	174
К термину «эндофитные бактерии» Хайруллин Р.М., Сарварова Е.Р.	175
Поиск клТ-ДНК в растительном геноме с помощью метода полногеномного выравнивания Хафизова Г.В., Добрынин П.В., Матвеева Т.В.	177
Устойчивость моркови к болезням при хранении Хмелинская Т.В., Ермолаева Л.В.	178
Природные ингибиторы из растений сои и их взаимодействие с экзопротеиназами микроорганизмов рода <i>Fusarium</i> Чебан А.Н., Щербакова Т.И., Будаков А.Б.	179
Влияние факторов среды на рост и образование Т-2 токсина грибом <i>Fusarium sporotrichioides</i> Чередова К.В., Скрытнич А.А., Гаврилова О.П., Гагкаева Т.Ю.	181
Выявление эндофитных бактерий побегов <i>Malus transitoria</i> (Batal.) Schneid. <i>in vitro</i> Чурикова О.А., Сперанская А.С., Криницына А.А.	182
Выделение исходного материала томата по устойчивости к биотическим факторам Шабета О.Н., Коцарева Н.В.	183
Защита томатов от альтернариоза штаммами бактерий рода <i>Bacillus</i> Шубина В.Э.	185
Оценка эффективности генов устойчивости к желтой ржавчине во взрослом состоянии растений пшеницы Шумилов Ю.В., Волкова Г.В., Матвеева И.П.	186
Безбактериальное получение косматых корней Ясыбаева Г.Р., Вершинина З.Р., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В.	187
Указатель организаций	189
Авторский указатель	190

CONTENT

Greeting letter to participants of the Conference Inge-Vechtomov S.G.	14
<u>Brief Reports</u>	
Resistance of barley accessions from Dagestan to powdery mildew Abdullaev R.A., Alpatieva N.V., Batasheva B.A., Anisimova I.N., Radchenko E.E.	15
Influence of exometabolites phytopathogens g. <i>Fusarium</i> on morpho-physiological characteristics of callus cultures of isogenic by genes <i>VRN</i> wheat lines Avksentyeva O.A., Terentyeva N.V.	16
Efficiency of application of metabolism products of entomopathogenic nematodes symbiotic bacteria in North-Western region of Russia Agansonova N.E.	18
The antagonistic effect of collection strains of bacteria to some plant pathogenic microorganisms Alekseenko N.V.	19
Application of the preparation Pseudobakterin-3 on the winter wheat under conditions of Western Ciscaucasia Androsova V.M., Didenko A.O.	20
Characterization of wheat accessions from VIR collection to important leaf diseases Baranova O.A., Kovalenko N.M., Khakimova A.G., Mitrofanova O.P.	22
The quest for evolutionary changes in plants adapted to high-altitude habitats: the next-generation sequencing and comparative analysis of chloroplast genomes of some <i>Allium</i> species Belenikin M.S., Krinitsina A.A., Logacheva M.D., Kuptsov C.V., Speranskaya A.S.	23
Jasmonate induced system of mobile wound response in potato plant modulates the activity of insecticides Benkovskaya G.V., Mardanshin I.S.	24
Polyphenolic contents in callus cultures of cranberry upon modification of culture medium with cytokinins and micromycetes formulations Berezina E.V., Ageeva M.N., Brilkina A.A., Veselov A.P.	26
The area and zones of harmfulness of potato aphid <i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas)(Homoptera, Aphididae, Macrosiphum) Berim M.N., Saulich M.I.	27
Stress resistance as factor of acclimatization <i>Harmonia axyridis</i> (Coccinellidae, Coleoptera) Binizkaya N.V., Belyakova N.A.	29
Secondary metabolites of actinomycetes as a basis for development of novel insecticidal bioformulations Boikova I.V.	30
Biological activity of the derivatives of phaeosphaeride A, a metabolite from <i>Paraphoma</i> sp. Bolshakova K.P., Abzianidze V.V., Berestetskiy A.O.	32
Complex ROS-regulating enzyme in the protection of wheat plants infected <i>S. nodorum</i> Burkhanova G.F., Karimov A.A., Maximov I.V.	33
Regulation of plant growth by metabolites of streptomycetes of soil of Moldova and its application prospects Burtseva S.A., Maslobrod S.N., Akiri I.G., Bratuhina A.A., Byrsa M.N.	35
Antagonism of bacteria g. <i>Bacillus</i> and <i>Sterptomyces</i> isolated from soil of Moldova against pathogens agents of crops Burtseva S.A., Shubina V.A., Byrsa M.N., Bereziuk Yu.N.	36
Immunological assessment of wheat samples, its rare species, aegilops from the collection Federal Research Center “Vavilov All-Russian Institute of Genetic Resources” and selection of sources with group resistance Volkova G.V., Kremneva O.Yu., Yu.V.Shumilov, Gladkova E.V., Vaganova O.F., Mitrofanova O.P., Lysenko N.S., Chikida N.N., Khakimova A.G., Zuev E.V.	38
Impact of the rotating magnetic fields on the spin-conformation of signaling molecules and on the plant-microbial interactions with involving these molecules Vorobyov N.I., Pukhalsky Y.V., Sviridova O.V., Pishchik V.N., Belimov A.A., Tolmachev S.Y.	39
The resistance to imidaclopridin of aphids <i>Aphis gossypii</i> associated with different host-plants Varabyova M.M., Voronova N.V.	41
Development of doubled haploid lines (DHs) in carrot (<i>Daucus carrot</i> L.) with the use of biotechnological methods Vjurts T.S., Shmykova N.A., Fedorova M.I., Zayachkovskaya T.V., Domblides E.A.	43
Biological relationships between <i>Fusarium</i> fungi and insects Gagkaeva T.Yu.	44
Comparative assessment of wild <i>Avena</i> L. species for resistance to <i>Fusarium</i> by quantitative PCR Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Blinova E.V., Loskutov I.G.,	46
Materials to the study of weeds and wild herbaceous plants in the Republic of North Ossetia-Alania Gasich E.L., Gannibal Ph.B., Berestetskiy A.O., Khlopinova L.B.	47

Cultivation of <i>Paranosema locustae</i> (Opisthosporidia: Microsporidia) in <i>Locusta migratoria</i> (Insecta: Orthoptera)	
Gerus A.V., Senderskiy I.V., Levchenko M.V., Zakota T.A., Tokarev Y.S.	58
Bioinformatic technologies in cycle assessment carbon in man-made forests Primoriye	
Golubev D.A., Filatova M.U., Krupskaya L.T.,	50
Problems of identification species <i>Phoma sensu lato in vitro</i>	
Gomzhina M.M.	52
Polymorphism of nucleotide sequence of mitochondrial COI gene of cryptic species populations of the genus <i>Ostrinia</i> (Lepidoptera: Pyraloidea)	
Grushevaya I.V., Malyshev J.M., Kononchuk A.G., Frolov A.N..	53
Polimorphism of <i>Puccinia triticina</i> fungus for virulence and microsatellite loci on <i>Triticum</i> and <i>Aegilops</i> species	
Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Aristova M.K., Kazartsev I.A..	54
Population structure of <i>Puccinia triticina</i> in the European regions of Russia	
Gulyaeva E.I., Shaydayuk E.L., Aristova M.K., Kazartsev I.A..	56
The use of wild nodule bacteria of the Southern Urals leguminous plants as a basis for bio-fertilizers	
Gumenko R.S., Ivanova E.S., Sargaliev G.M., Baymiev An.K.	57
Preliminary results of the study of aphidiines of subfamily Trioxinae (Hymenoptera: Aphidiidae) from the collection of the Zoological Institute RAS	
Davidian E.M.	58
Biosynthetic potential of filamentous fungi	
Dalinova A.A., Volosatova N.S., Berestetskiy A.O.	60
The use of microbiological preparations for insect pest control in organic agriculture	
Dobrohotov S.A., Anisimov A.I.	61
The protection of cereal crops from diseases in organic agriculture	
Dobrohotov S.A., Chernyavina N.V., Anisimov A.I.	62
Application of molecular and cell biology approaches in the field of plant protection	
Dolgikh V.V., Senderskiy I.V., Timofeev S.A., Tsarev A.A., Mitina G.V., Rogozhin E.A.	64
Analysis of varieties of winter and spring triticale cultivars released in the Republic of Belarus for the presence of resistance genes to leaf, stem and yellow rust	
Dolmatovich T.V., Bulochik A.A.	65
Study of antifungal activity of bacteria of the genus <i>Bacillus</i> from permafrost of Western Siberia	
Domanskaya O.V., Kolokolova N.N., Frank Ya.V..	67
Interspecies hybridization of lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.) in selection for resistance to Tomato aspermy cucumovirus	
Engalycheva I.A., Pavlova O.V.	68
Developing of methodic scheme of gamete source control of <i>Brassica oleracea</i> L. plant regenerants in anther culture by DNA-genotyping	
Epifanovitch N.V., Mukhina Zh.M., Savenko E.G., Koroleva S.V., Glazyrina V.A., Shundrina L.A., Epifanovitch Yu.V.	70
Evaluation of potato varieties for resistance to blackleg	
Yertayeva B.A..	71
Late blight resistance of the parental accessions of three Mexican potato species and their hybrids assessed using three isolates of <i>Phytophthora infestans</i>	
Zoteyeva N.M..	72
Resistance to fungal diseases in new spring bread wheat accessions of VIR collection	
Zuev E.V., Lebedeva T.V., Kovaleva M.M., Brykova A.N., Tyryshkin L.G.	74
Genetic characteristic of rhizobia isolated from <i>Lupinaster</i> sp.	
Ivanova E.S., Gumenko R.S., Sargaleeva G.M., Baymiev An.Kh..	75
Evaluation of susceptibility of <i>Galleria mellonella</i> (Lepidoptera: Pyraloidea) to infection of insect pathogenic microsporidia of five species	
Ignatieva A.N., Vorontsova Ya.L., Yaroslavtseva O.N., Grushevaya I.V., Tokarev Y.S.	76
The degeneration (degradation) of the Aport apple variety due to non-transmissible plant disease and its control methods	
Isin M.M.	78
Phytosanitary construction of agrosystems as the basis of non-pesticide spiked cereal protection of winter wheat against dominant pest complex in organic farming	
Ismailov V.Ya., Shirinyan J.A., Pushnya M.V., Umarova A.O.	79
Impact Characteristics of Immunotsifit to Western flower thrips (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	
Kirillova O.S.	81
Larvae of ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in the agrocoenoses of potato and other crops	
Koval A.G., Guseva O.G.	82
Resistance of barley accessions from ICARDA (Syria) to net blotch and scald	
Konovalova G.S..	83

Virulence of Kyrgyzstan natural isolates of anamorphic ascomites for larvae of the Colorado potato beetle Konurova D.S., Levchenko M.V., Turgunbayev K.T., Smagulova Sh.B., Uspanov A.M., Lednev G.R.	85
Increase resistance to rice by blast pyramiding of several genes with marker control Kostylev P.I., Krasnova E.V., Redkin A.A., Mukhina Zh.M., Dubina E.V.	86
The use of biotechnology in the environmental challenges in the Far Eastern Federal District Krupskaya L.T., Golubev D.A., Filatova M.U.	87
Entomopathogenic strain of <i>Bacillus thuringiensis</i> 787 Kryzhko A.V., Kuznetsova L.N.	89
The mobilization of calcium orthophosphate by bacteria from <i>Advenella</i> and <i>Pseudomonas</i> genera Kuzmina L.Y., Guvatova Z.G., Ioannina V.I., Aktuganov G.E., Galimzyanova N.F., Melentev A.I.	90
The analysis of the impact of rhizobial exopolysaccharides on seeds and seedlings of the red clover (<i>Trifolium pratense</i>) Lavina A.M., Nigmatullina L.R., Vershinina Z.R., Baymiev A.I.	91
Entomopathogenic fungi in bark beetles populations from Zailiysky Alatau Lednev G.R., Abdukerim R., Uspanov A.M., Sabitova M.N., Kamenova A.S., Levchenko M.V., Duisembekov B.A.	93
Studying receptors controlled of resistance development to pathogens and forming of symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi in pea Leppyänen I.V., Vishnevskaya N.A., Dolgikh E.A.	94
The influence of <i>Bacillus megaterium</i> 501 on plant growth of maize under stress conditions Lisina T.O., Kruglov Yu.V.	95
The inheritance of mildew resistance by hybrid offspring of grapes, seedless directions crossings Maistrenko A.L.	97
The inheritance of resistance to mildew hybrid seed varieties breeding VNIIV Maistrenko A.N., Maistrenko A.L., Duran N.A.	98
Identification of <i>Agrobacterium</i> strains in the crown gall affected ampeloceneses of Anapa-Taman zone of Krasnodar region Makarkina M.V., Vladimirov I.A., Ilnitskaya E.T., Matveeva T.V.	100
Species diversity of microsporidia in sympatric populations of stem borers of the genus <i>Ostrinia</i> Malysh Yu.M., Grushevaya I.V., Tokarev Yu.S., Kononchuk A.G., Frolov A.N.	101
The biological effectiveness of necrotic barrier to protect the potato from the Colorado potato beetle Mardanshin I.S., Benkovskaya G.V.	102
Estimation and selection of inbred lines of cabbage on complex stability to illnesses and wreckers Maslova A.A., Ushakov A.A., Startsev V.I., Bondareva L.L.	104
Molecular genetic approaches for study of cT-DNA diversity in naturally transgenic plant species of <i>Nicotiana</i> and <i>Linaria</i> genera Matveeva T.V., Khafizova G.V., Lutova L.A.	105
Not exactly transgenic plants Matveeva T.V.	106
Bacteria of the genus <i>Pseudomonas</i> as promising agents for biological control of diseases and enhanced productivity in agriculture Minnebaev L.F.	108
Genetic specialization of <i>Pyrenophora teres</i> f. <i>teres</i> to the new plant-host – wheat Mironenko N.V., Kovalenko N.M., Mikhailova L.A.	109
The impact of volatile metabolites from the entomopathogenic fungi on the behavioral responses of the sucking insects Mitina G.V., Stepanycheva E.A., Petrova M.O., Choglokhova A.A., Lednev G.R.	110
Development of transgenic plants using floral dip method and estimation of probability of gene flow from transgenic canola Mikhaylova E.V., Denisov A.M.	111
Reaction of the advanced tomato varieties to the <i>Alternaria alternata</i> and <i>Fusarium</i> spp. culture filtrates Mihnea N., Lupashku G., Grigorcea S.	113
Effect of the rose bush building on dynamics of the spider mite <i>Tetranychus urticae</i> Koch. and the predatory mite <i>Phytoseiulus persimilis</i> Ath. – Henr. under conditions of small-volume hydroponics in «Agroleader» Ltd Co Moor V.V., Kozlova E.G.	115
Efficiency of mutations induction for resistance to main winter wheat diseases Nazarenko N.N.	116
Analysis of the influence of constitutive expression of <i>rapA1</i> gene in <i>R. leguminosarum</i> PVu5 on the efficiency of nodulation, nitrogenase activity, biomass and growth parameters of <i>Phaseolus vulgaris</i> L. plants Nigmatullina L.R., Lavina A.M., Serbaeva E.R., Vershinina Z.R., Baymiev A.I.	118
Detection and identification of tomato bacterial cancer by FLASH-PCR Nizamdinova G.K.	119

Biological diversity of microorganisms as a basis for development of new multifunctional biological products for phytosanitary optimization of agroecosystems Novikova I.I.	120
Degradation of systemic herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by bacteria of the genus <i>Halomonas</i> and <i>Pseudomonas</i> Nurusheva L.M., Vasileva A.M., Gilvanova E.A.	122
Advantages of using molecular biology and genetics tools in plant protection Nygymetova A.M.	123
Automated methods of sunflower crop zonation by degree of phytosanitary risk of culture cultivation Ovsyannikova E.I., Grichanov I.Ya., Saulich M.I., Yakutkin V.I.	124
New paradigm of plant protection development and concept of its scientific and practical resolution Pavlyushin V.A., Vilkova N.A., Sukhoruchenko G.I., Tyuterev S.L., Nefedova L.I.	126
Development of a PCR-based assay for prey species identification in gut content of predatory bugs of the family Miridae (Insecta: Heteroptera) Pazyuk I.M., Malyshev Yu.M., Tokarev Yu.S.	127
Defensive reactions of <i>Galleria mellonella</i> , caused by the infection with entomopathogenic fungi <i>Lecanicillium muscarium</i> Pervushin A.L., Kryukov V.Y., Mitina G.V., Tomilova O.G.	129
Determination of optimal treatment period of winter wheat vegetating plants of Kalym cultivar with Albit and TPS preparations Podvarko A.T., Skovpen L.N., Zlotnikov A.K.	130
Effect of different temperature condition for fungal and bacterial diseases of insects Polenogova O.V., Kryukov V.Yu., Yaroslavtseva O.N., Tomilova O.G., Grizanova E.V., Akhanev Yu.B., Dubovskiy I.M., Glupov V.V.	131
The screening criteria of new biological control agents to protect plant in greenhouses of botanical gardens Polikarpova Yu.B., Varfolomeeva E.A.	133
Optimization of culture conditions for production of phytotoxic metabolite from <i>Paraphoma</i> sp. VIZR 1.46 Poluektova E.V., Bolshakova K.P., Berestetskiy A.O.	134
Herbicidal activity of phaeosphaeride A, a phytotoxic metabolite from <i>Paraphoma</i> sp. VIZR 1.46 and evaluation of its enhancement by using in combination with adjuvants Poluektova E.V., Berestetskiy A.O.	135
The concentration dependence of the immunomodulatory effect of the salicylic acid and vanilline in system: wheat plant – <i>Cochliobolus sativus</i> (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur Popova E.V., Kovalenko N.M., Sokornova S.V., Domnina N.S., Tyuterev S.L.	136
Effect of complex beta-cyclodextrin with elemental sulfur on growth of wheat Pudova E.A., Gilvanova E.A.	137
A new bacterial strain, <i>Pseudomonas koreensis</i> IB-4. Prospects for its use in agricultural practice Rafikova G.F.	139
Efficacy of biofungicide Vitaplan of spring barley North-West of Non-Chernozem region Rogozhnikova E.S., Shpanev A.M.	140
The application of <i>in vitro</i> methods to wheat breeding Rosseev V.M., Belan I.A., Rosseeva L.P.	142
Role of reactive oxygen species in the interaction of the wheat plants and the grain aphid <i>Schizaphis graminum</i> by endophytic bacteria of the genus <i>Bacillus</i> Rumyantsev S.D., Burkhanova G.F., Veselova S.V., Maksimov I.V.	143
Semi-synthetic ecdysteroids in regulation of vital activity of insects Savchenko R.G., Kostyleva S.A., Odinkov V.N., Parfenova L.V., Phedotov A.D., Akhmetkireeva T.T., Benkovskaya G.V.	145
Prospects of the biological preparations development and application for pest control in Kazakhstan Sagitov A.O., Uspanov A.M., Kamenova A.S., Slyamova N.D., Duisembekov B.A., Glupov V.V., Lednev G.R.	146
Detection of resistant to alternaria tomato genotypes by pollen analysis methods Saltanovich T.I., Antoci L.P.	147
The inheritance of the resistance of reciprocal hybrids <i>Triticum aestivum</i> L. to the filtered cultures of the pathogen <i>Helminthosporium avenae</i> Eidam Sasco E.F.	149
Effect of volatiles from the entomopathogenic fungi on the behavioral responses of the stock pests Selitskaya O.G., Mitina G.V., Schenikova A.V., Choglokhova A.A., Levchenko M.V.	150
Heavy metal ions in vitro: new ideas for obtaining genetically changed plant forms Sergeeva L.E., Bronnikova L.I.	152
Effect of ABA-agonist pirabactin on growth, productivity and sustainability of pea and wheat plants Sinitsyna Yu.V., Yakunina A.V., Krutova E.K., Sukhov V.S., Veselov A.P.	153

Ecology-genetic characteristics of <i>Metarhizium</i> sp. isolate MMB	
Sokornova S.V., Yaroslavtseva O.N., Aleksandrova A.V., Lednev G.R., Borisov B.A.,	155
Markers of the <i>Pl</i> , <i>Or</i> , <i>AHASI</i> genes for sunflower breeding for resistance to downy mildew, broomrape and herbicides	
Solodenko A.E., Varenik B.F.	156
Role of symbiotic bacteria of potato and Colorado potato beetle in host-phytophage interaction	
Sorokan A.V., Benkovskaya G.V., Blagova D.K., Maksimova T.I., Maksimov I.V.	158
Anisaldehyde as a potential attractant for entomophages	
Stepanycheva E.A., Petrova M.O., Chermenskaya T.D.	159
Prospects of using <i>Trichoderma virens</i> fungus in order to stimulate growth of American cranberry microshoots during adaptation	
Struchkova I.V., Yurlova A.V., Brilkina A.A., Berezina E.V.	160
Monitoring of Colorado potato beetle resistance to insecticides in model potato agroecosystems	
Syrtlanova L.A., Kitaev K.A., Benkovskaya G.V.	161
Identification of donor transmission characteristic mildew high stability technical red seedlings grape	
Syan I.N., Kologrivaya R.V., Arestova N.O.	163
Efficiency add to the growth medium of Murashige-skuga crushed schungite in the cultivation of potato micro plants	
Timeiko L.W., Kuznetsova L.A.	164
Multibiorecycling of technogenic wastes by edible mushrooms	
Titova J.A.	166
Monitoring of the development of crops diseases in Tyumen region	
Tobolova G.V., Furtaev K.V., Kabanin I.B.	168
Estimation of the immunizing action of microbial chitinase against the potato stem canker	
Tomilova O.G., Duzhak A.B.	170
Modification variability of virulence in cereals obligate phytopathogens: conclusions and consequences	
Tyryshkin L.G.	171
Improvement of bait method for isolation of entomopathogenic ascomycetes (<i>Ascomycota</i> , <i>Hypocreales</i>) from soil	
Tyurin M.V., Kryukov V.Yu., O.G. Tomilova, Yaroslavtseva O.N., N.A. Kryukova, Glupov V.V.	173
Fauna, trophic connections and the spread of gall midges (<i>Diptera</i> , <i>Cecidomyiidae</i>), developing in the colonies of mites (<i>Acarina</i>)	
Fedotova Z.A.	174
To the Term «Endophytic Bacteria»	
Khairullin R.M., Sarvarova E.R.	175
Search of cT-DNA in plant's genomes through whole-genome alignment	
Khafizova G.V., Dobrynin P.V., Matveeva T.V.	177
Carrot disease resistance during storage	
Khmelinskaya T.V., Ermolaeva L.V.	178
Natural inhibitors from soybean and their interaction with exoproteinases produced by microorganisms from genus <i>Fusarium</i>	
Cheban A.N., Scerbacova T.I., Budac A.B.	179
Influence of factors of medium composition on the growth and T-2 toxin production by <i>Fusarium sporotrichioides</i>	
Cheredova K.V., Skritnik A.A., Gavrilova O.P., Gagkaeva T.Yu.	181
Identification of endophytic bacteria in <i>Malus transitoria</i> (Batal.) Schneid. shoots growing <i>in vitro</i>	
Churikova O.A., Speranskaya A.S., Krinitsina A.A.	182
Isolation of the raw material of tomato for resistance against biotic factors	
Shabetya H.E., Kotsareva N.V.	183
Protection of tomatoes against early blight by strains bacteria of the <i>Bacillus subtilis</i>	
Shubina V.A.	185
Evaluation of genes efficiency for resistance to yellow rust in adult wheat plant	
Shumilov Yu.V., Volkova G.V., Matveeva I.P.	186
Induction of hairy roots without agrobacterium transformation	
Yasybaeva G.R., Vershinina Z.R., Kuluev B.R., Chemeris A.V.	187
Index of organizations	189
Index of authors	190

ПРИВЕТСТВИЕ УЧАСТНИКАМ КОНФЕРЕНЦИИ

«Селекция – это эволюция, направляемая волей человека» (Н.И. Вавилов)

Эти слова были написаны Н.И.Вавиловым в тот период, когда еще даже не утвердилась синтетическая теория эволюции (СТЭ), у истоков которой стоял другой наш соотечественник - Ф.Г.Добжанский. С тех пор и селекция как прикладная дисциплина и теория эволюции как наука фундаментальная прошли путь активного совершенствования. Уже с конца XX столетия мы понимаем, что СТЭ, основанная в первую очередь на закономерностях микроэволюции (генетики популяций), мягко выражаясь, не достаточна для понимания реальных процессов, происходящих в природе. Вспомним, что Ф.Г.Добжанский не разделял представлений своего патрона – Ю.А.Филипченко о различии между закономерностями микро- и макро-эволюции.

Тем не менее, сегодня очевидно, что эволюционируют не организмы и, даже не популяции, хотя в них и происходят элементарные эволюционные события. Эволюционируют экосистемы, т. е. надвидовые образования, в которых различные виды взаимодействуют между собой и с окружающей абиотической средой. Это обстоятельство определяет значение экологической генетики, дисциплины, основы которой заложили работы С.С.Четверикова и его сотрудников, начавших изучение генетики популяций в природных условиях в двадцатые годы прошлого столетия. Сегодня экологическую генетику можно определить как взаимосвязь экологических отношений и генетических процессов. При этом изменилось само понятие признака, формируемого в результате взаимодействия организмов на внутривидовом и межвидовом уровнях. Учитывая сложные отношения в природных пищевых сетях, реже в пищевых цепях, мы можем выделять элементарные эколого-генетические модели, как, например взаимодействие членистоногих и высших растений (или грибов) на базе

метаболизма стеридов, когда различные последовательные этапы метаболического пути осуществляют (персонифицируют) различные виды организмов. Так, развитие членистоногих определяет стероидный гормон линьки экдизон, предшественники которого эти животные не умеют синтезировать и получают с пищей из растений.

Другой пример эколого-генетических отношений – генетическая колонизация: взаимодействие *Agrobacterium tumefaciens* и крестоцветных, сопровождаемое горизонтальным переносом генетического материала от бактерии к высшему растению. Эти и им подобные отношения стали основой генной инженерии в селекции растений. Уже находят практическое применение отношения насекомых и их внутриклеточных симбиотических бактерий рода *Wolbachia*. Такие примеры можно умножить. Ограничимся упоминанием техники редактирования геномов на базе системы CRISPR-Cas, которую исследователи также «подсмотрели» у природы в механизме, обеспечивающем устойчивость бактерий к бактериофагам.

Все большее значение приобретает область экологической генетики, исследующая микробиом животных, человека, почвенный микробиом, влияющие на фенотип высших организмов. Достаточно вспомнить микробиологические удобрения, идущие на смену химическим удобрениям. Человек все отчетливее осознает свою собственную роль как фактора биологической эволюции.

Таким образом, слова Н.И.Вавилова остаются актуальными сегодня, несмотря на то, что изменились наши представления о процессе эволюции. Все сказанное определяет актуальность и практическую значимость тематики нынешнего совещания, которому я желаю успехов от имени Вавиловского общества генетиков и селекционеров и от Совета по генетике и селекции Российской Академии Наук.

Академик РАН, проф. С.Г. Инге-Вечтомов
СПб Филиал Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН,
кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ.

УДК 632.938.1

УСТОЙЧИВОСТЬ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ДАГЕСТАНА К МУЧНИСТОЙ РОСЕ**Р.А. Абдуллаев, Н.В. Алпатьева, Б.А. Баташева, И.Н. Анисимова, Е.Е. Радченко***Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, abdullaev.1988@list.ru*

С помощью традиционных и молекулярно-генетических методов выявили полиморфизм и гетерогенность по устойчивости к возбудителю мучнистой росы (*Blumeria graminis*) 265 образцов ячменя культурного из Дагестана, среди которых преобладали местные формы. В полевых экспериментах высокой устойчивостью к дагестанской (Дербент) и северо-западной (С.-Петербург) популяциям патогена характеризовались образцы к-23787 и к-28212. В лаборатории при искусственном заражении ювенильных интактных растений выделенные формы были гетерогенны по изучаемому признаку. Практически не поражались грибом 11 из 47 линий с идентифицированными ранее генами устойчивости к грибу, 2 формы оказались гетерогенными. У образца к-28212 с помощью молекулярных маркеров идентифицировали ген *mlo11*, контролирующей устойчивость ячменя к мучнистой росе. Образец к-23787 защищен другим (другими) генами устойчивости.

Ключевые слова: ячмень, *Blumeria graminis*, молекулярные маркеры, гены устойчивости.

Мучнистая роса ячменя (возбудитель – гриб *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal) наиболее вредоносна в регионах с влажным климатом. Экологически безопасный и экономически выгодный способ борьбы с болезнью – возделывание устойчивых сортов. К сожалению, большая часть идентифицированных генов устойчивости неэффективны против популяций гриба, распространенных в России. Одним из возможных путей поиска доноров генов устойчивости является изучение местных ячменей.

Устойчивость к патогену 265 образцов ячменя оценивали на Дагестанской опытной станции ВИР (Дербент) в период колошения и в фазу молочной спелости зерна с помощью шкалы от 1 (устойчивость очень низкая) до 9. В 2012–2014 гг. наблюдали эпифитотийный уровень развития болезни. На жестком инфекционном фоне первоначально выделили 5 образцов (к-23787, к-25615, к-28211, к-28212, к-30781), поражение которых не превышало 7 баллов; в 2014 г. устойчивость проявили лишь 2 образца: к-23787 и к-28212. Выделенные в Дагестане формы, которые были высеяны на опытном поле Пушкинских лабораторий ВИР (С.-Петербург), оказались устойчивыми (7 баллов) и к местной популяции гриба. Оценили также 39 линий ячменя, несущих ранее идентифицированные гены устойчивости к мучнистой росе. Среди них образцы к-30225, несущий ген *mlo11*, и к-31011 (*mlo1*) характеризовались наиболее высокой устойчивостью (9 баллов); поражение 13 линий составило 7 баллов. Таким образом, выявили устойчивые к мучнистой росе образцы ячменя, которые могут представлять интерес для селекции не только в Дагестане, но и в других регионах страны.

В лаборатории при искусственном заражении интактных растений оценили ювенильную устойчивость к северо-западной популяции гриба двух выделенных форм и 47 линий с известными генами устойчивости. Оба образца оказались гетерогенны по изучаемому признаку. Устойчивые растения (88% от числа изученных) образца к-28212 практически не поражались грибом (7–9 баллов), уровень экспрессии устойчивого компонента (80% растений) образца к-23787 несколько ниже: 5–7 баллов. Практически не поражались грибом 11 линий с идентифицированными

ранее генами устойчивости к грибу, 2 формы оказались гетерогенными.

С помощью молекулярных маркеров, разработанных Р. Piffanelli с соавторами [2004], у образцов к-23787 и к-28212 обнаружили растения, несущие рецессивные (функциональные) аллели *mlo11*. Семнадцать из 26 проанализированных растений образца к-28212 были гомозиготны по аллелю *mlo11*, 9 растений несли доминантные аллели в гомозиготном состоянии. Среди 34 растений образца к-23787 обнаружили одно гетерозиготное по аллелям локуса *mlo11* растение. Тем не менее, это растение и ряд других были устойчивы к грибу, т.е. образец к-23787 защищен другим (другими) генами устойчивости.

Ген *mlo11* был обнаружен у местных форм ячменя из Эфиопии и в настоящее время широко распространен в современных сортах. По сведениям отдела генетических ресурсов овса, ржи и ячменя ВИР, линия к-28212 получена с участием ярового ячменя из Эфиопии к-17554, а родословная образца к-23787 неизвестна. С помощью праймеров ADUP7, Mlo6 и Mlo10 у образца к-17554 обнаружили растения, несущие рецессивный аллель *mlo11*, т.е. эта форма, вероятно, использовалась как донор при отборе линии к-28212.

Р. Piffanelli с соавторами [2004] провели анализ гаплотипов местных и современных сортов ячменя, а также образцов *Hordeum spontaneum*, используя различные молекулярные маркеры, в том числе SNP смысловой части локуса *Mlo*. Эти авторы показали, что все современные европейские сорта, несущие рецессивный аллель *mlo11*, почти идентичны по исследованным признакам. Мы сравнили образец к-28212 и изогенную линию – носителя аллеля *mlo11*, амплифицировав фрагменты смысловой последовательности локуса. У изогенной линии с аллелем *mlo11* (3 растения) и устойчивого дагестанского образца к-28212 (7 растений) секвенировали фрагмент длиной 530 пн. В последовательностях секвенированных фрагментов обнаружили различия по двум полиморфным сайтам. Были выявлены две замены нуклеотидов (Т-С и С-Т), а также полиморфизм между отдельными растениями, причем некоторые замены ранее в литературе не обсуждались. Полученные результаты позволяют предполагать, что гаплотип к-17554 был использован в селекции вперые.

Библиографический список (References)

- Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouna A., D'Hont A., Hollricher K., Jørgensen J.H., Schulze-Lefert P., Panstruga R. A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew // *Nature*, 2004. V. 430. N. 7002. P. 887–891.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 15–16

RESISTANCE OF BARLEY ACCESSIONS FROM DAGESTAN TO POWDERY MILDEW

R.A. Abdullaev, N.V. Alpatieva, B.A. Batasheva, I.N. Anisimova, E.E. Radchenko

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, abdullaev.1988@list.ru

With the use of conventional and molecular genetic techniques a polymorphism and heterogeneity by the resistance against powdery mildew pathogenic agent (*Blumeria graminis*) was revealed in a group of 265 cultivated barley accessions from Dagestan among which the landraces were prevailing. In the field experiments the accessions k-23787 and k-28212 were characterized by a high resistance against the Dagestanian (Derbent) and North-West populations of the pathogen. The selected forms were heterogeneous by the examined character under artificial inoculation of juvenile intact plants in the laboratory. Eleven of the 47 lines with the earlier identified fungus resistance genes practically did not damaged by the pathogen and 2 forms were heterogeneous. Using molecular markers the *mlo11* gene controlling barley resistance against powdery mildew was identified in the accession k-28212. The accession k-23787 is protected by the other (others) resistance genes.

УДК 634.1:581.1.036

**ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ФИТОПАТОГЕНОВ Р. *FUSARIUM*
НА МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР
ИЗОГЕННЫХ ПО ГЕНАМ *VRN* ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ**

О.А. Авксентьева, Н.В. Терентьева

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина, avksentyeva@univer.kharkov.ua

В культуре *in vitro*, изучали влияние культуральных фильтратов микромицетов *Fusarium oxysporum* и *Fusarium moniliforme* на рост каллусов и активность пероксидазы изогенных по генам контроля темпов развития (*VRN*) линий пшеницы *Triticum aestivum* L. В результате проведенных исследований установлено, что экзометаболиты фитопатогенов, оказывают противоположные эффекты на цитологические параметры (число и длина каллусных клеток), рост каллусных культур (ПИ) и ферментативную активность пероксидазы у изолиний, различающихся темпами развития в условиях *in vivo*. Культуральный фильтрат *F. oxysporum* оказывает больший токсический эффект на рост каллусных культур по сравнению с экзометаболитами *F. moniliforme*. Предполагается, что генетическая система контроля темпов развития *Triticum aestivum* L. *in vivo* опосредованно детерминирует формирование устойчивости к биотическому стрессу в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, гены *VRN*, яровизация, NILs, каллусная культура, ростовой индекс, устойчивость к фитопатогенам.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 16–17

**INFLUENCE OF EXOMETABOLITES PHYTOPATHOGENS G. *FUSARIUM*
ON MORPHO-PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF CALLUS CULTURES
OF ISOGENIC BY GENES *VRN* WHEAT LINES**

O.A. Avksentyeva, N.V. Terentyeva

V.N. Karazin Kharkiv National University, avksentyeva@univer.kharkov.ua

Wheat is the most valuable food crop taking the first place in cereal balance of Ukraine [Morgun and al., 2010]. Its efficiency depends on the realization of genetically laid characteristics and influence of environmental conditions reacting at each stage of plant ontogenesis [Morgun and al., 2010]. It is known, that duration of ontogenesis, type of development (spring/winter) and speed of development in soft wheat *Triticum aestivum* L. determined by the system of *VRN* genes [Stelmach and al., 2000; Cockram J. and al., 2007]. One of the factors limited the productivity of soft wheat is affection by vascular diseases induced by different types of micromycete of g. *Fusarium* [Grutcyk, 2013]. *In vitro* is a modern model system in phytobiological research and in present days is widely used in cell selection for receiving

stable to diseases plant varieties [Bavol and al., 2009; Kornya, 2011]. Thus, in forming of resistance to plant pathogens, age, plant ontogenesis phase put through biotic stress are of the essence, it is interesting to learn predetermination by genes of wheat development rates in forming of biological mechanisms of resistance to biotic stresses.

The aim of our work is to research the influence of exometabolites phytopathogens of genus *Fusarium* on callus cultures isogenic wheat lines differ by development rates. The objects of research were almost isogenic by genes *VRN* lines (NILs) of soft wheat *Triticum aestivum* L., Mironovskaya 808 sort and phytopathogenic micromycetes *Fusarium oxysporum* and *Fusarium moniliforme* (micromycet culture collection of Physiology and Biochemistry of Plant and Microorganisms

Department V. N. Karazin Kharkiv National University). Primary callus cultures of isogenic lines were obtained using in the capacity of explants mature embryo. The cultivation was conducted in nutrient medium Myrasige and Skuga (MS) containing growth stimulant – 2,4-D (2 mg/l) in thermostat with temperature 26°C in the darkness. Phytopathogens exometabolites influence g. *Fusarium* was researched by adding cultural filtrate of micromycetes into nutrient medium MS in the ratio 1:20. The cultivation of callus cultures of isogenic lines was conducted during four weeks analyzing growing indicators (callus areas, growing index, length and number of cells of callus tissues). On the finishing of cultivation, we conducted peroxidase activity determination – the main component in a enzymatic antioxidant plant system.

The results of our experiments showed that in conditions of *in vitro* cultures exometabolites phytopathogens *F. oxysporum*

insignificantly and *F. moniliforme* considerably stimulate the growth of callus cultures of fast-developing isogenic lines *VRN Ala* and *VRN D1a* (table). Growing index of callus cultures *VRN Bla* and sort (all *vrn* genes are recessive) under the action of exometabolites *F. oxysporum* is reducing and under the action of *F. moniliforme*, on the contrary, is growing. Application of cultural filtrate into the medium of callus cultivation influence on their cytological characteristics. Isolines differ by development rates differently react on exometabolites plant pathogens. In fast-developing, in conditions *in vivo*, isolines *VRN Ala* and *VRN D1a* in callus culture under the influence of phytopathogens the number of cells is reducing, but their length is growing. In slowly-developing isolines *Vrn Bla* and sort, on the contrary, the number of cells is growing, but its size is reducing.

Table. The influence of exometabolites g. *Fusarium* on the growth of callus cultures of isogenic by genes *VRN* wheat lines

Isoline	Variant	Growing index, %	Number of cells, N×10 ⁶ /g	Length of cells, mcm	Peroxidase activity, y.e
VRN A1a	Control	21.2	12.5	6.0	2.54
	<i>F. oxysporum</i>	26.8	9.9	10.2	4.08
	<i>F.moniliforme</i>	31.5	9.1	9.5	3.47
VRN B1a	control	18.2	5.9	13.3	8.83
	<i>F. oxysporum</i>	11.4	7.7	9.3	2.63
	<i>F.moniliforme</i>	21.1	12.7	12.5	2.89
VRN D1a	control	15.3	6.0	6.1	1.05
	<i>F. oxysporum</i>	24.3	5.2	6.7	2.23
	<i>F.moniliforme</i>	37.6	5.9	8.4	1.87
Sort M-808 (all the <i>vrn</i> genes are recessive)	control	18.9	5.6	9.3	4.16
	<i>F. oxysporum</i>	16.3	7.2	6.3	1.95
	<i>F.moniliforme</i>	25.9	8.1	7.1	2.57
HCP _{0,05}		2.4	1.2	1.9	0.9

It is necessary to note, that exometabolites *F. oxysporum* are more phytotoxic, which is seen in changing of all the morpho-physiological callus cultures indicators in comparison to *F. moniliforme*. Among researched isogenic lines of wheat, the most resistant to pathogens by all indicators is isolate *VRN Ala*, characterized by fast rates of growing plant conditions

of *in vivo*, and the less resistant – slowly-developing isolate *VRN Bla*. The received results allow us to suppose that *VRN* genes, determining the rates of development in conditions *in vivo* indirectly in participate in forming of resistance to exometabolites phytopathogens g. *Fusarium* in conditions *in vitro*.

References

- Bavol A.V., O.V., Lyalko I.I. Dubrovnyaya. Selection of *in vitro* of soft wheat on resistance to *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici*//Physiology and biochemistry of cult. plants. 2009. T.41. N. 4.p. 314–321. (Russian)
- Cockram J, Jones H, Leigh F., O'Sullivan D, Powell W, Laurie D., Greenland A. Control of flowering time in temperate cereals: genes, domestication and sustainable productivity // J. Exp. Botany. 2007. 58 N 6. p 1231–1244.
- Gritsyuk N. V. Resistance of winter wheat varieties to *Fusarium* infection at different stages of destruction // Quarantine and protection of plants, 2013. N. 10. p. 1–3. (Ukrainian)
- Kornya T.M. The effectiveness of the use of morphological and physiological characteristics for *in vitro* evaluation of the stability of the samples of soft wheat to *Fusarium graminearum* //The Bulletin of Kharkiv National Agrarian University, 2011. T.22. N. 1.p.76–83. (Russian)
- Morgun V. V., Kirizy D. A. Shadchina T.K. Ecophysiological and genetic aspects of adaptation of cultural plants to global climate changes// Physiology and biochemistry of cult. plants., 2010. T.42. N. 1.p.3–23. (Russian)
- Morgun V. V., Shvartau V. V., Kirizy D. A. Physiological bases of formation of high efficiency of grain cereals//Physiology and biochemistry of cult. plants. 2010. T.42. N. 5. p. 371–393. (Russian)
- Stelmakh A.F., Veit W. I., Martynyuk V. R. Genetic systems of type and control of speed of development of soft wheat//Cytology and genetics. 2000. T.34. N. 2. p. 39–45. (Russian)

In the culture *in vitro*, we studied the influence of cultural micromycetes filtrates of *Fusarium oxysporum* and *Fusarium moniliforme* on callus growth and peroxidase activity of development rates (*VRN*) of isogenic by genes *Triticum aestivum* L. wheat lines. As a result, of the conducted researches it is established that exometabolites phytopathogens render opposite effects on cytological parameters (number and length of callus cells), the growth of callus cultures (GI) and peroxidase fermentative activity at the isolines differing with development rates in the conditions of *in vivo*. The cultural filtrate of *F. oxysporum* renders bigger toxic effect on the growth of callus cultures in comparison with *F. moniliforme* exometabolites. It is supposed that the genetic monitoring system of *Triticum aestivum* L. wheat development rates in the conditions of *in vivo* indirectly determines the formation of the resistance to biotic stress in the conditions of *in vitro*.

Keywords: *Triticum aestivum* L.; *Fusarium oxysporum*; *Fusarium moniliforme*; *VRN* genes; vernalization; NILs; callus culture; growth index; resistance to phytopathogens.

УДК 632.937

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ

Н.Е. Агансонова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
info@vizr.spb.ru

Оценена биологическая эффективность продуктов метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод (*Xenorhabdus*, Enterobacteriaceae) при защите растений от болезней – фитофтороза картофеля *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и корневой гнили огурца *Fusarium oxysporum* Schlecht. Методы исследований: спектрофотометрический, титриметрический, газометрический, термостатно–весовой, кислотного гидролиза, титриметрический с визуальным титрованием. измерительный, весовой, дисперсионный. Установлено, что обработка продуктами метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод снижает распространенность и развитие болезней, повышая устойчивость растений к возбудителям, урожайность и качество продукции. Использование биологического средства защиты растений повышает уровень ферментативной активности в почве в конце вегетационного периода культур. Применение продуктов метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод перспективно для включения в систему интегрированной защиты растений.

Ключевые слова: фитофтороз, корневая гниль, пероксидаза, каталаза, ферментативная активность почвы, картофель, огурец, урожайность.

Продукты метаболизма симбиотических бактерий (*Xenorhabdus*, Enterobacteriaceae) энтомопатогенных нематод (*Rhabditida*, Steinernematidae) (ПМСБ ЭН) перспективны для пополнения ассортимента экологически безопасных средств защиты растений от болезней.

Лабораторные образцы ПМСБ ЭН (*X. bovienii*, водная суспензия, титр 10^7 клеток/мл, 50 мл/л) получены от группы по энтомопатогенным нематодам лаборатории микробиологической защиты растений ВИЗР. ПМСБ ЭН в “Государственный каталог...” препаратов и биологических средств, разрешенных к применению в РФ, не включены.

При обработке картофеля ПМСБ ЭН установлено снижение распространенности и развития фитофтороза *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, повышение урожайности и активности ферментов пероксидазы и каталазы, а также улучшение качества товарных клубней – увеличение содержания крахмала и витамина С.

При хранении картофеля, обработанного ПМСБ ЭН, распространенность болезней на клубнях снизилась на 41.8% [Агансонова, 2015а].

Обработка клубней перед посадкой и 3–кратное опрыскивание вегетирующих растений ПМСБ ЭН способствуют снижению распространенности и развития фитофтороза на 34 и 30%, повышению активности пероксидазы в листьях в течение всей вегетации в 10.5–11.4 раз и урожайности на 17% [Агансонова, 2015б].

При защите картофеля против золотистой картофельной нематоды *Globodera rostochiensis* Woll. и фитофтороза установлено, что использование ПМСБ ЭН снижает пораженность растений нематодой на 28% и фитофторозом на 35% при повышении урожайности на 19% [Агансонова, 2015с].

Образцы ПМСБ ЭН показали высокую эффективность против возбудителя корневой гнили огурца *Fusarium oxysporum* Schlecht. В лабораторных опытах на пророст-

ках огурца (искусственное заражение семян *F. oxysporum*) обработка ПМСБ ЭН снижала развитие болезни на 31%, увеличивая длину и вес проростков.

В условиях теплицы двукратное внесение в почву и опрыскивание вегетирующих растений ПМСБ ЭН против корневой гнили огурца, вызываемой возбудителем *F. oxysporum*, уменьшают количество выпадов растений на 11%, снижают распространенность и развитие корневой гнили в 1.8 и 2.5 раз, а также способствуют увеличению активности пероксидазы в листьях в 12–13 раз. Отмечено увеличение высоты растений на 22%, листьев на 23% и количества завязей на 48%. Установлено улучшение качества плодов – увеличение содержания сухого вещества и витамина С [Агансонова, 2015д]. Обработка ПМСБ ЭН растений огурца ускоряет цветение и плодоношение, а также увеличивает период плодоношения на 9–12 суток и урожайность на 26%.

Установлено, что обработка растений картофеля и огурца ПМСБ ЭН способствует увеличению активности ферментов защитной системы растений (пероксидазы, каталазы) [Агансонова, 2015е].

Внесение в почву ПМСБ ЭН увеличивает активность ферментов пероксидазы и каталазы в почве в конце вегетации растений огурца на 6.7 и 39%, что свидетельствует об интенсивности повышения активности микрофлоры почвы, влияющей на ее плодородие.

Таким образом, применение ПМСБ ЭН эффективно сдерживает развитие фитофтороза картофеля и корневой гнили огурца, улучшает рост и развитие растений, повышает урожайность культур и качество продукции.

Проведенные исследования показали перспективность использования ПМСБ ЭН для защиты растений от болезней в системах интегрированной защиты картофеля и овощных культур теплиц.

Библиографический список (References)

Агансонова Н.Е. Влияние продуктов метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод на урожай картофеля // Научный журнал НИУ ИТМО, Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». 2015а. №3. <http://processes.ihbt.ifmo.ru/file/article/13943.pdf>.

Агансонова Н.Е. Нематодно–бактериальный комплекс для защиты картофеля от проволочников и фитофтороза // Защита и карантин растений, 2015б. №11. С. 35–36.

Агансонова Н.Е. Оценка влияния ответных реакций растений на колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* S. в системе картофеля – фитопаразитическая нематода // Агротехнический метод защиты растений: матер. 7-й междунар. науч. – практич. конф., Краснодар, 2015с, С.3–5.

Агансонова Н.Е. Оценка эффективности нематодно – бактериального комплекса на культуре огурца // Биологизация земель в адаптивно–

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 18–19

ландшафтной системе земледелия: матер. Всерос. науч. – практич. конф., Белгород, 2015d, С.286–289.

Агансонова Н.Е. Оценка влияния ответных реакций растений на фиточагов в системах растения – фитопаразитические нематоды // Вестник защиты растений, 2015е, N2, С.41–48.

EFFICIENCY OF APPLICATION OF METABOLISM PRODUCTS OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES SYMBIOTIC BACTERIA IN NORTH-WESTERN REGION OF RUSSIA

N.E. Agansonova

All-Russian Institute of Plant Protection, info@vizr.spb.ru

The using of metabolism products of entomopathogenic nematodes symbiotic bacteria (*Xenorhabdus*, Enterobacteriaceae) increased the yields, improved quality, suppressed the development of the phytophthora *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and root rot *Fusarium oxysporum* Schlecht., increased the activity enzymes peroxidase and catalase of plants and the level of enzyme activity in the soil at the end of the growing season of plants.

УДК 579.64

АНТАГОНИСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ШТАММОВ БАКТЕРИЙ НА НЕКОТОРЫЕ ВИДЫ ФИТОПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Н.В. Алексеенко

НИИ сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия, isg.krym@gmail.com

С целью разработки эффективных микробных препаратов для защиты сельскохозяйственных культур от фитопатогенов проведен поиск их биоагентов – высокоактивных штаммов с широким спектром антагонистического действия к возбудителям бактериальных и грибных болезней растений. С использованием метода перпендикулярных штрихов на агаризованных питательных средах определена способность штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 проявлять высокую антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным грибам (27.0–48.0 мм). В то же время по отношению к возбудителям бактериальных заболеваний штаммы *B. amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 и *Bacillus pumilis* 01-2 проявили незначительное антагонистическое действие и зона остановки роста штаммов-фитопатогенов составила от 2 до 6 мм.

Ключевые слова: штаммы, *Bacillus*, микромицеты, *Fusarium*, фитопатогенные бактерии, антагонистическая активность, метод штрихов.

Значительные потери урожая вызывают различные болезни. Среди них очень вредоносны бактериозы, а также фузариозы, которые приводят к угнетению роста растений, быстрому отмиранию пораженных тканей или полной гибели всего растения, прямым потерям урожая, ухудшению товарности продукции и снижению сроков ее хранения [Захаренко, 2005]. По данным ФАО, в мире теряется по этой причине почти треть всех производимых продуктов питания – примерно 1.3 млрд. тонн в год. Поэтому, проблема защиты растений от бактериальных и грибных заболеваний сегодня является актуальной. Разрешить ее возможно путем поиска высокоактивных штаммов с широким спектром антагонистического действия к фитопатогенным бактериям и внедрение их в производство [Мелентьев, 2007; Moshafi et al, 2011].

Цель исследований – поиск высокоактивных штаммов с широким спектром антагонистического действия к возбудителям бактериальных и грибных болезней сельскохозяйственных растений.

В отделе сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», выделены эффективные штаммы рода *Bacillus*, которые проявляют антагонистическое действие к широкому спектру фитопатогенных грибов. Для иссле-

дований из коллекции антагонистов фитопатогенов отобраны штаммы: *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501, *Bacillus pumilis* 01-2 и изучено их влияние на штаммы фитопатогенных микромицетов рода *Fusarium* и патогенных бактерий: *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 80036 (возбудитель сосудистого бактериоза); *Agrobacterium tumefaciens* 8628 (бактериальный рак); *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 8511 (возбудитель пятнистости и гнилости сельскохозяйственных растений); *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* 102 (бактериальный рак томатов).

Антагонистическое действие определяли методом перпендикулярных штрихов на рыбо-пептонном агаре по отношению к фитопатогенным бактериям и на гороховой агаризованной среде к фитопатогенным грибам [Егоров Н.С., 1969]. Полученные данные обрабатывали статистически с использованием компьютерной программы STATISTICA 6.0.

В лабораторных опытах отдела сельскохозяйственной микробиологии исследованы штаммы микроорганизмов, выделенные как антагонисты фитопатогенов. Установлено, что штамм *Bacillus pumilis* 01-2 обладает высокой антагонистической активностью и зона угнете-

ния роста фитопатогенных грибов составляла 12–15 мм [Пархоменко, 2009].

В результате дальнейших исследований по поиску высокоактивных штаммов к возбудителям грибных болезней установлено, что штамм *Bacillus sp.* 12501 проявляет высокую антифунгальную активность и зона остановки роста штаммов фитопатогенных микромицетов составила 30.0–47.0 мм (табл.). Штамм *B. amyloliquefaciens* 01-1, характеризующийся высокой скоростью роста на агаризованной питательной среде, показал антагонистическую активность в пределах 27.0–48.0 мм.

Невысокую антагонистическую активность отмечено при исследовании штаммов *B. amyloliquefaciens* 01-1 и *Bacillus sp.* 12501 по отношению к возбудителям бактериальных заболеваний и зона остановки роста фитопатогенов составила от 2 до 3 мм. Выявлено, что штамм *B. pumilis* 01-2 также проявляет антагонистическую активность по отношению к патогенной бактерии *X. campestris pv. campestris* 80036 и зона остановки роста составила 6 мм.

Таким образом, определена способность штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 прояв-

Таблица. Антифунгальная активность штаммов *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1 и *Bacillus sp.* 12501

Варианты опыта	Зона остановки роста грибов рода <i>Fusarium</i> , мм	
	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 01-1	<i>Bacillus sp.</i> 12501
<i>F. solani</i> st.s 14	42.0 ± 0.8	30.0 ± 3.5
<i>Fusarium sp.</i> 17	46.0 ± 3.2	42.0 ± 2.1
<i>Fusarium sp.</i> 7/2	48.0 ± 4.0	35.0 ± 4.4
<i>Fusarium sp.</i> 26/3	37.0 ± 1.4	47.0 ± 2.3
<i>F. sporotrichioides</i> st.ss 55	35.0 ± 2.3	45.0 ± 4.4
<i>F. oxysporum</i> st.o 38	27.0 ± 2.6	37.0 ± 1.8

лять высокую антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным грибам (27.0–48.0 мм). В то же время по отношению к возбудителям бактериальных заболеваний штаммы *B. amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 и *Bacillus pumilis* 01-2 проявили незначительное антагонистическое действие и зона остановки роста штаммов-фитопатогенов составила от 2 до 6 мм.

Библиографический список (References)

- Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. Москва: Высшая школа, 1969. С. 162–167.
- Мелентьев А.И. Аэробные спорообразующие бактерии *Bacillus Cohn.* в агроэкосистемах. М.: Наука, 2007. 149 с.
- Пархоменко Т.Ю. Особенности влияния новых штаммов микроорганизмов с антагонистическими свойствами к фитопатогенам на эпифитную микрофлору семян и развитие томата // Сільськогосподарська мікробіологія: міжвід. наук. тематичний збірник, 2009. Вип. 10. С. 73–82.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 19–20
- Захаренко В.А., Захаренко А.В. Экономический аспект применения пестицидов в современном земледелии России // Рос. Хим. Журн., 2005. Т. 49. С. 55–63.
- Moshafi M, Foroofanfar H, Ameri A, Shakibaie M, Dehghan-Noudeh G, Razavi M. Antimicrobial activity of *Bacillus sp.* strain FAS1 isolated from soil // Pak. J. Pharm. Sci., 2011. V. 24. P. 269–275.

THE ANTAGONISTIC EFFECT OF COLLECTION STRAINS OF BACTERIA TO SOME PLANT PATHOGENIC MICROORGANISMS

N. V. Alekseenko

Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea, isg.krym@gmail.com

In order to develop an effective microbial biopreparations for crops protection from plant's pathogens their biological agents were searched. These agents are highly active strains with a wide spectrum of antagonistic actions to the agents of bacterial and fungal plants diseases. Using the method of perpendicular grooves on the agar nutrient media the capability of *Bacillus amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 strains of showing a high antagonist activity against phytopathogenic fungi (27.0–48.0 mm) was determined. At the same time the strains *B. amyloliquefaciens* 01-1, *Bacillus sp.* 12501 and *Bacillus pumilis* 01-2 were showed a little antagonistic action on the agents of bacterial diseases and the growth-stop zone phytopathogens strains was 2 to 6 mm.

УДК 632.937

ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТА ПСЕВДОБАКТЕРИН-3 НА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЕ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОГО ПРЕДКАВКАЗЬЯ

В.М. Андросова, А.О. Диденко

Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия, vanda711@mail.ru

Изучена эффективность применения препарата Псевдобактерин-3 на озимой пшенице в условиях Западного Предкавказья. В посевах озимой пшеницы по разным предшественникам были определены развитие болезней (естественное заражение), урожайность и масса 1000 зёрен, проанализировано качество зерна при помощи инфракрасного спектрофотометра по вариантам, включающим обработки семян и растений биопрепаратами Псевдобактерин-3, Бактофит, химическими фунгицидами (стандарт) и контроль (без обработки). Полученные данные были обработаны статистически. Установлено, что обработки семян и растений озимой пшеницы препаратом Псевдобактерин-3 при оптимальных нормах расхода малоэффективны против комплекса болезней (фузариозно-гельминтоспориозной

прикорневой гнили и пиренофороза) в условиях засухи, но приводят к увеличению урожайности, массы 1000 зёрен и повышению качества зерна (несмотря на чернь колоса). Применение препарата перспективно в органическом земледелии и в системах интегрированной защиты озимой пшеницы от болезней.

Ключевые слова: биопрепараты, комплекс болезней, обработка семян и растений, урожайность.

Более двадцати лет препараты на основе бактерий рода *Pseudomonas* используются в сельском хозяйстве, конкурируя с химическими средствами защиты [Горбунов, 2012]. Препарат Псевдобактерин-3 разработан в ИБФМ РАН, г. Пущино на основе штамма-антагониста *Pseudomonas aureofaciens* ВКМ В-2391 Д в виде концентрированной бактериальной пасты с титром $5 \cdot 10^{11}$ КОЕ/мл. Сообщений о его применении на пшенице Западного Предкавказья не было.

Цель настоящей работы – изучить эффективность применения препарата Псевдобактерин-3 на озимой пшенице в условиях Западного Предкавказья.

Посев семян, обработанных препаратами Псевдобактерин-3, ПС – 4.0 г/т, Бактофит, СК – 3.0 л/т (на основе *Bacillus subtilis* ИПМ 215, ООО Сиббиофарм), Раксил, КС – 0.5 л/т (д.в. тебуконазол, Байер АГ) и необработанных (контроль), был проведён по разным предшественникам (озимая пшеница и люцерна). Опрыскивание растений из семян, обработанных биопрепаратами, проведены этими же препаратами при нормах расхода 1.0 г/га и 2.0 л/га соответственно. Посевы из семян, протравленных Раксилом, КС были обработаны Альто Супер, СК – 0.5 л/га (д.в. пропиконазол + ципроконазол, Сингента Кроп Протекшн АГ) – стандарт. Обработки растений проведены в начале выхода в трубку (31 по Цадоксу) и колошение (59 по Цадоксу). Учёты болезней проведены по методическим указаниям [2009]. Были определены урожайность и масса 1000 зёрен по вариантам. Оценка качества зерна проведена на спектрофотометре «Инфрапид – 61». Данные обработаны статистически по Б.А. Доспехову [1985].

Установлено, что прикорневые фузариозно-гельминтоспориозные гнили появились в посевах озимой пшеницы по пшенице в феврале, а по люцерне – в начале апреля, когда обработки семян по вариантам уже не имели определяющего значения. Возбудители фузариозной гнили *Gibberella cyanea* (Sollm.) Wt., *Gibberella saubinetii* (Mont.)

Sacc. и другие, возбудитель обыкновенной или гельминтоспориозной корневой гнили – *Cochliobolus sativus* Drechsl. et Dastur). Пиренофороз в этом опыте появился также позже, чем в посеве по пшенице. Возбудитель пиренофороза – *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsl.). После обработок в фазу начала выхода в трубку, а затем в фазу колошения озимой пшеницы болезни продолжали распространяться в посевах по обоим предшественникам. В июне пиренофороз в посеве по пшенице распространился на флаг-лист. Его распространённость в этот период составляла 70%, а развитие 19% (контроль), что превысило экономический порог вредоносности (ЭПГ – 15%). Однако переход болезни на флаг-лист в вариантах с препаратами происходил медленнее, чем в контроле. Наибольшая биологическая эффективность против пиренофороза была в стандарте (56%). В опыте по предшественнику люцерна болезни так и не достигли ЭПГ за весь период вегетации, что позволило оценить влияние препаратов непосредственно на формирование урожайности. Было получено зерно третьего класса (несмотря на чернь колоса). В вариантах с обработкой семян и растений биопрепаратами масса 1000 зёрен и урожайность оказались достоверно больше по сравнению с контролем и стандартом, а содержание клейковины и белка мало отличалось от последнего, но были достоверно больше чем в контроле. Урожайность в вариантах с препаратами Псевдобактерин-3 и Бактофит (79.9 и 79.1 ц/га соответственно) была достоверно больше чем в контроле (77.1 ц/га) и стандарте (76.7 ц/га), так как подавление болезней не являлось определяющим. В посеве по пшенице наибольшая урожайность (60.2 ц/га) оказалась в стандарте за счёт более эффективного подавления пиренофороза.

Применение препарата Псевдобактерин-3 перспективно в органическом земледелии и в системах интегрированной защиты озимой пшеницы от болезней.

Библиографический список (References)

Горбунов О.П. Бактерии рода *Pseudomonas* и их антибактериальные, фунгицидные, инсектицидные и удобрительные свойства // Материалы Международной научно-практической конференции «Современные мировые тенденции в производстве и применении биологических и экологически малоопасных средств защиты растений». Краснодар,

2012. с. 174–175.

Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. Санкт Петербург, 2009. 378 с.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. М.: Агропромиздат, 1995. 351 с.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 20–21

APPLICATION OF THE PREPARATION PSEUDOBACTERIN-3 ON THE WINTER WHEAT UNDER CONDITIONS OF WESTERN CISCAUCASIA

V.M. Androsova, A.O. Didenko

All-Russian Institute of Biological Plant Protection, vanda711@mail.ru

The effectiveness of the preparation Pseudobakterin-3 application on the winter wheat in the conditions of Western Ciscaucasia has been studied. The disease development (natural infection), yield and weight of 1000 grains were identified in the crops of winter wheat by different predecessors; grain quality was analyzed using an infrared spectrophotometer involving seed and plant treatment with biological products Pseudobakterin-3, Bactofit, chemical fungicides (standard) and control (without treatment). The obtained data were processed statistically. It was found that the seed and winter wheat treatment with Pseudobakterin-3 at the optimum application rates are ineffective against the disease complex (Fusarium-helminth- spores root rot and tan spot) in drought conditions, but it results in increased productivity, 1000 grains weight and improves grain quality (despite black ears). The preparation application is promising in organic farming and winter wheat integrated protection systems against diseases.

УДК 632.938.1

ХАРАКТЕРИСТИКА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ОСОБО ОПАСНЫМ ЛИСТОВЫМ БОЛЕЗНЯМ ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

О.А. Баранова¹, Н.М. Коваленко¹, А.Г. Хакимова², О.П. Митрофанова²

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, baranova_oa@mail.ru

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

Цель настоящей работы – оценка новых поступлений образцов в коллекцию ВИР по устойчивости к желтой и темно-бурой пятнистостям, стеблевой и бурой ржавчинам, выявление источников устойчивости. Из изученных 94 образцов озимой мягкой пшеницы 45 были устойчивыми к стеблевой ржавчине, 11 – бурой ржавчине, 41 – желтой пятнистости и лишь KS92WGRC19, к-65395 (США) – средне устойчивым к возбудителю темно-бурой пятнистости. Групповую устойчивость проявили сорта Podolyanka, Madyarka, Amigo и линия KS92WGRC16 – к бурой и стеблевой ржавчинам и желтой пятнистости. Сорта Nurlu 99, Saba и Tut были устойчивыми к стеблевой ржавчине и желтой пятнистости, KS96WGRC39 и Yumar – к бурой и стеблевой ржавчинам, Myronivka Rannostigla – желтой и темно-бурой пятнистостям. Выявленные источники устойчивости к болезням можно рекомендовать для использования в селекционных программах.

Ключевые слова: желтая пятнистость, темно-бурая пятнистость, стеблевая ржавчина, бурая ржавчина, пшеница.

Пшеница – ведущая зерновая культура в России. Поскольку наиболее экономичным и безопасным способом защиты ее от болезней является возделывание устойчивых сортов, то поиск источников и доноров устойчивости к основным наиболее вредоносным болезням пшеницы, в том числе с групповой устойчивостью, имеет приоритетное значение.

Бурая ржавчина – возбудитель *Puccinia triticina* Erikss. et Henn, распространенное заболевание пшеницы во всех регионах России, которое может привести к существенным потерям урожая в годы эпифитотии. В последнее время пристальное внимание селекционеров также уделяется стеблевой ржавчине пшеницы (*Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erik. et Henn). Это вызвано высокой агрессивностью данного патогена и возможным заносом на территорию Российской Федерации расы стеблевой ржавчины – Ug99. При эпифитотийном развитии стеблевой ржавчины потери урожая могут составлять 50–70%, а при появлении расы Ug99 – 80% и более [Jin *et al.*, 2008].

Желтая пятнистость (возбудитель *Pyrenophora tritici-repentis* Died. Drechs.) широко распространена на Северном Кавказе, в Западной Сибири и Северо-Западном регионе РФ. Эпифитотии желтой пятнистости периодически наблюдаются в разных странах мира, потери зерна у восприимчивых сортов пшеницы достигают 65%.

Темно-бурая листовая пятнистость, вызываемая грибом *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechs. ex Dastur, также одна из вредоносных болезней пшеницы, потери урожая варьируют от 38% до 87%. В РФ эта болезнь широко распространена в Западной Сибири, на Дальнем Востоке в Приморском крае [Кузнецова, 1987].

Цель нашей работы заключалась в поиске новых источников устойчивости к желтой и темно-бурой пятнистостям, стеблевой и бурой ржавчинам среди образцов пшеницы, пополнивших коллекцию ВИР.

Изучали 94 образца озимой мягкой пшеницы, включенных в коллекцию ВИР в 2013–2014 гг. Оценка устойчи-

вости проведена по лабораторной методике [Михайлова, Квитко, 1970; Михайлова, Афанасенко, 2005].

Для инокуляции использовали омскую популяцию возбудителя стеблевой ржавчины, ленинградскую популяцию возбудителя бурой ржавчины, изолят P1 *S. sativus*, выделенный из ленинградской популяции патогена, изолят POC22 *Pyrenophora tritici-repentis*, полученный из ростовской популяции патогена. Все популяции патогенов собраны в 2015 г.

Выявлено 45 образцов (50% от числа изученных), устойчивых к омской популяции возбудителя стеблевой ржавчины. К бурой ржавчине устойчивыми были 11 образцов (12%), из них кк-65616, -65397 (США), к-65393 (Канада), к-65358 (Украина) – высокоустойчивыми.

Единственная линия KS92WGRC19 (к-65395, США) оказалась среднеустойчивой к темно-бурой пятнистости. Все остальные образцы были восприимчивыми к этой болезни. Немногим менее половины из числа изученных образцов в той или иной мере проявили устойчивость к желтой пятнистости. Из них высоко устойчивыми были 18 образцов, среди которых сорта из Белоруссии (к-65640, к-65643, к-65646, к-65647), Украины (к-65343, к-65347, к-65358) и США (к-65398, к-65403, к-65405). Обнаружены образцы с групповой устойчивостью. Так сорта пшеницы Podolyanka, Madyarka, Amigo и линия KS92WGRC16 были устойчивыми к возбудителям бурой и стеблевой ржавчины и желтой пятнистости. Сорта Nurlu 99, Saba и Tut – стеблевой ржавчине и желтой пятнистости, KS96WGRC39 и Yumar – к бурой и стеблевой ржавчинам, а сорт Myronivka Rannostigla – к желтой и темно-бурой пятнистостям.

Выявленные образцы озимой мягкой пшеницы, устойчивые к отдельным болезням и с групповой устойчивостью, можно рекомендовать в качестве исходного материала для использования в селекционных программах в различных регионах РФ.

Библиографический список (References)

- Михайлова Л.А., Квитко К.В. лабораторные методы культивирования возбудителя бурой ржавчины *Puccinia recondita* Rob. ex Desm. f. sp. *tritici* // Микология и фитопатология, 1970. Т.4 с. 269–273.
- Михайлова Л.А., Афанасенко О.С. Применение отсеченных листьев в исследованиях устойчивости злаков к болезням // Миколог. фитопатол., 2005. Т. 39. С. 100–106.
- Кузнецова Т.Т. Видовой состав болезней зерновых культур в Западной Сибири // Науч.-технич. бюлл. Сиб. отделения ВАСХНИЛ, 1987. N 2. С. 50–52.
- Jin Y., Szabo L.J., Pretorius Z.A., Singh R.P., Ward R., Fetch T. Detection of virulence to resistance gene *Sr24* within race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* // Plant Dis., 2008. V. 92. P. 923–926.

CHARACTERIZATION OF WHEAT ACCESSIONS FROM VIR COLLECTION TO IMPORTANT LEAF DISEASES

O.A. Baranova¹, N.M. Kovalenko¹, A.G. Khakimova², O.P. Mitrofanova²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, info@vizr.spb.ru

²N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, vir@vir.nw.ru

The purpose of this work was evaluation of wheat accessions from the VIR collection on resistance to tan spot, spot blotch, stem and leaf rust. Among 94 evaluated accessions 45 are resistant to stem rust, 11 – to leaf rust, 41 – to tan spot, and KS92WGRC19 (k-65395, USA) is medium resistant to the spot blotch. There are identified accessions with multiple disease resistance. The cultivars Podolyanka, Madyarka, Amigo and line KS92WGRC16 are resistant to leaf and stem rust and tan spot. The cultivars Nurlu 99, Saba and Tut are resistant to stem rust and tan spot, KS96WGRC39 and Yumar are resistant to leaf and stem rusts, and Myronivka Rannostigla is resistant to tan spot and spot blotch. The accessions which were defined as resistant may be recommended as starting material for wheat breeding programs.

УДК: 582.572.225

ПОИСК АДАПТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ, СВЯЗАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ОБИТАНИЮ В УСЛОВИЯХ ВЫСОКОГОРИЙ: ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ХЛОРОПЛАСТНЫХ ГЕНОМОВ ИЗ НЕСКОЛЬКИХ ВИДОВ РОДА *ALLIUM*

М.С. Беленикин, А.А. Криницына, М.Д. Логачева, С.В. Купцов, А.С. Сперанская

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, hanna.s.939@gmail.com

В настоящей работе описаны результаты экстракции хлоропластной ДНК (хпДНК), высокопроизводительного секвенирования и сборки генома хлоропласта видов рода *Allium*: *A. elatum* Regel., *A. obliquum* L., *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Сравнительный анализ хпДНК этих видов и *A. cepa* L. позволяет лучше понять дивергенцию рода *Allium*. В частности, сравнение сиквенсов хпДНК выявило предполагаемые функционально значимые вставки в гене *ycf3* *A. elatum* и *A. paradoxum*, а также потерю гена *infA* в хпДНК *A. elatum*.

Ключевые слова: *Allium*, адаптивная эволюция, хлоропластный геном, сравнительный анализ.

Род *Allium* L. (Alliaceae) является одним из крупнейших родов мировой флоры. Его представители произрастают в Северном полушарии, среди них довольно большое количество редких и эндемичных видов. Наличие экономически важных растений этого рода объясняет необходимость исследований их диких родичей, в том числе, приспособившихся в процессе эволюции к выживанию в неблагоприятных для сельскохозяйственной деятельности условиях, например, подверженных воздействию повышенной дозировки УФ излучения, недостаточного увлажнения, резким перепадам суточных температур.

В настоящей работе мы провели сравнительный анализ последовательностей хлоропластных (хп) геномов четырех видов рода *Allium*, отличающихся в природе ареалом и экологическими условиями обитания: *A. cepa* L., *A. elatum* Regel. (syn. *A. macleanii* Baker.), *A. obliquum* L. и *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Целью работы являлся поиск нуклеотидных полиморфизмов или перестроек, отражающих эволюционную адаптацию вида к особенностям занимаемой им экологической ниши. Последовательности хпДНК посевного лука *A. cepa* L. были ранее установлены в работе von Kohn et al., 2013 и представлены в базе данных RefSeq. Мы произвели выделение хпДНК, высокопроизводительное секвенирование и сборку последовательностей хп геномов *A. elatum*, *A. obliquum* и *A. paradoxum*.

A. elatum высокогорный вид, обитающий в безлесных долинах с выраженным сухим летним периодом. Этот вид произрастает в Центральной Азии, Пакистане, Афганистане, западном Непале и северо-западной Индии (Кашмир, Уттар-Прадеш).

A. obliquum обитает на относительно влажных лугово-степных участках и в редколесьях лесостепного типа. Произрастает на западе Монголии, северо-западе Китая, Средней Азии, Монголии, Закарпатской Украине, Венгрии, южной части Западной Сибири, на Алтае, на Урале, юго-западном Предуралье и на юге европейской части России.

A. paradoxum обитает в нижнем ярусе сезонно-влажных листопадных лесов нижнего и среднего горного пояса, в особенности на влажной почве вдоль временных водотоков, избегает открытых мест. Широко распространен в Западной Европе и части Азии.

Нами получена информация о полных последовательностях хп-геномов видов *A. obliquum*, длина которой составила 153049 п.о., а также о 90% последовательностей хп-геномов видов *A. elatum* и *A. paradoxum*. Сравнительный анализ последовательностей исследованных видов и *A. cepa* показал, что в хп-геноме *A. elatum* содержится значительное количество инсерций/делеций (107–702 п.о.), локализованных в межгенных спейсерах. В хп-геноме *A. obliquum* также имеется ряд заметных делеций в межген-

ных спейсерах, однако их локализация, как правило, не совпадает. Эти результаты соответствуют данными систематики, т.к. перечисленные виды относятся к различным подродам: *A. elatum* – подрод *Melanocrommyum* (Webb et Berth.) Rouy, *A. obliquum* – подрод *Polyprason* Radic по классификации N. Friesen с соавт. [2006, цит. по Серегин, 2007]. Вероятнее всего, инсеции/делеции в межгенных спейсерах не связаны с особенностями экологии произрастания видов и отражают лишь их независимую эволюцию. Наибольшие отличия были обнаружены в хп-геноме *A. paradoxum*: найден ряд существенных структурных отличий (в том числе, делеций с суммарным размером около 3 500 п.н.), локализованных, в основном, в пределах одного участка генома размером около 10 000 п.н.

В хп-геноме *A. elatum* обнаружена делеция гена *infA*, кодирующего фактор инициации трансляции I. Большинство (но не все) изученные виды покрытосеменных несут функциональный ген *infA* в хп-геноме. Существует предположение, что наличие мутаций в этом гене может быть ассоциировано с формированием мутантного (хлорофилл-недостаточного) фенотипа, в частности у ячменя [Landau et al., 2007]. При этом, на примере нескольких видов показано, что отсутствие функционирующего гена

infA в хп-геноме может компенсироваться экспрессией его копии в ядерном геноме.

У двух видов, *A. elatum* и *A. paradoxum*, были найдены инсерции в последовательностях интрона I генов *usc3*: 5 п.о. для *A. elatum* и 11 п.о. для *A. paradoxum*. Ген *usc3* найден в хп-геномах зеленых водорослей и сосудистых растений, кодирует белок, участвующий в сборке белкового ансамбля фотосистемы I и состоит из 3х экзонов, разделенных двумя интронами. Наличие первого интрона необходимо для сплайсинга белка *usc3*. На примере мутантных растений табака было показано, что делеция первого интрона гена *usc3* приводит у растений, выращиваемых в условиях недостаточной освещенности к образованию мутантного фенотипа (недостаток хлорофилла, отставание в росте) [Petersen, 2011]. В работе Landau et al., 2009 показано, что в ячмене формирование мутантного фенотипа может быть обусловлено двумя точечными мутациями в интроне I гена *usc3*, он проявляется при повышенных температурах выращивания, а также зависит от характера освещения. Можно предположить, что обнаруженные инсерции в *usc3* у *A. elatum* и *A. paradoxum* могут быть ассоциированы с особенностями его экспрессии при различных условиях произрастания.

Библиографический список (References)

- Серегин А.П. Род *Allium* L. (Alliaceae) во флоре восточной Европы. // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Москва: 2007. 27 с.
- von Kohn C., Kielkowska A., Havey M.J. Sequencing and annotation of the chloroplast DNAs and identification of polymorphisms distinguishing normal male-fertile and male-sterile cytoplasm of onion. // *Genome*, 2013. V. 56. P. 737–742.
- Landau A, Paleo A.D., Civitillo R., Jauregui-alzo M., Prina A.R. Two *infA* gene mutations independently originated from a mutator genotype in barley // *Journal of Heredity*, 2007. V. 98. N 3. P. 272–276.
- Petersen K., Schöttler M.A., Karcher D., Thiele W., Bock R. Elimination of a group II intron from a plastid gene causes a mutant phenotype // *Nucleic Acids Res.* 2011. V. 39. N 12. P. 5181–5192.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 23–24

THE QUEST FOR EVOLUTIONARY CHANGES IN PLANTS ADAPTED TO HIGH-ALTITUDE HABITATS: THE NEXT-GENERATION SEQUENCING AND COMPARATIVE ANALYSIS OF CHLOROPLAST GENOMES OF SOME ALLIUM SPECIES

M.S. Belenikin, A.A. Krinitsina, M.D. Logacheva, C.V. Kuptsov, A.S. Speranskaya

Lomonosov Moscow State University, hanna.s.939@gmail.com

In this study, the chloroplast DNA (cpDNA) extraction, next-generation sequencing and chloroplast genome assembly reported for *Allium* species: *A. elatum* Regel., *A. obliquum* L., *A. paradoxum* (M. Bieb.) G. Don. Comparative analysis cpDNA of these species to *A. cepa* L. provides insights to the divergence of chloroplast sequences of *Allium* species. Comparison of protein-coding regions of cpDNA sequences reveals potentially functional significant insertions in *usc3* of *A. elatum* and *A. paradoxum*, and *infA* gene loss in cpDNA of *A. elatum*.

УДК 577.19

ЖАСМОНАТ-ИНДУЦИРОВАННАЯ СИСТЕМА МОБИЛЬНОГО РАНЕВОГО СИГНАЛА РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ МОДУЛИРУЕТ АКТИВНОСТЬ ИНСЕКТИЦИДОВ

Г.В. Беньковская¹, И.С. Марданшин²

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

²Башкирский НИИ сельского хозяйства, Уфа, Россия, bengal2@yandex.ru

Цель: проверка предположения о синергистическом действии на личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) метилжасмоната и ряда химических инсектицидов. Метод: лабораторный эксперимент с введением растворов метилжасмоната в концентрации $1 \cdot 10^{-7}$ М и инсектицидов в диагностических концентрациях (фипронила, дельтаметрин, тиаметоксам) в проводящие пути растений картофеля и содержание на листьях этих растений личинок или яиц колорадского жука вплоть до завершения развития. Результаты: метилжасмонат способен усиливать негативное действие дельтаметрина, полностью подавляя развитие на стадии окукливания, тогда как в сочетании с хорошо известным

соединением системного действия тиаметоксамом и фипронилом метилжасмонат снижал их инсектицидную активность. Область применения: разработка новых подходов к оценке эффективности химических и биологических средств контроля численности колорадского жука. Выводы: данные позволяют предположить, что метилжасмонат, индуцируя каскад защитных реакций растения, приводит в действие механизмы, способные модулировать нейротоксическое действие инсектицидов. Очевидна необходимость учета этого влияния при оценке эффективности инсектицидов и прогнозе результатов их применения.

Ключевые слова: колорадский жук, фипронил, дельтаметрин, тиаметоксам, метилжасмонат.

Современные инсектициды, применяемые в большинстве агроценозов, являются ингибиторами (антагонистами) рецепторов, либо их агонистами, нарушающими передачу и проведение нервных импульсов насекомых. Мишени и механизмы их действия изучены в совершенстве, однако остается открытым вопрос о том, как эти вещества, попадая в ткани растений, взаимодействуют с ними. В основном, все представления о такого рода взаимодействиях ограничены понятиями фитотоксичности (имеются в виду непосредственные повреждения растений препаратами) и метаболизма токсикантов в тканях растений. Однако относительно недавно появились сведения о существовании у растений механизмов проведения электрических импульсов, и участия в них мембранных каналов, сходных с такими у животных [DeCoursey, 2013], в связи с чем возникает необходимость новых исследований в этой области.

Фитофаг, повреждая ткани растения, приводит в действие каскад защитных реакций растения, среди которых на первом месте – активация жасмонатного сигнального пути [Farmer, Ryan, 1990]. В результате индуцируется экспрессия генов, кодирующих ингибиторы протеиназ, подавляющие питание и нарушающие пищеварительные процессы фитофага. Предположив, что обработка картофеля метилжасмонатом (МЖ) совместно с инсектицидами, нарушающими работу нейроэндокринной системы колорадского жука может дать эффект их синергистического действия, мы оценили в лабораторных условиях влияние МЖ на чувствительность личинок колорадского жука (II возраст) к ряду инсектицидов. МЖ в сигнальной концентрации ($1 \cdot 10^{-7} \text{M}$) и инсектициды (дельтаметрин, фипронил, тиаметоксам) в диагностических для личинок этого возраста концентрациях вводили в проводящие пути срезуемых растений картофеля, на которых после этого содержали личинок. Предварительные эксперименты по оценке влияния МЖ на продолжительность развития и жизнеспособность колорадского жука показали, что выживание личинок, развившихся на растениях, обработанных МЖ,

снижалось по сравнению с контролем в 3.5 раза. Однако в следующей серии экспериментов мы установили, что МЖ способен усиливать негативное действие дельтаметрина (полностью подавляя развитие на стадии окукливания), тогда как в сочетании с фипронилом и хорошо известным соединением системного действия тиаметоксамом МЖ снижал его инсектицидную активность (табл.).

Таблица. Влияние на жизнеспособность личинок колорадского жука инсектицидных соединений и метилжасмоната

Вариант	Смертность личинок, 10-е сутки с начала питания	Доля развившихся имаго, %
Контроль	63.0 ± 9.5	8.0 ± 2.1
МЖ	45.0 ± 10.3	10.1 ± 3.0
Фипронил	60.0 ± 9.6	2.5 ± 1.3
МЖ + фипронил	40.0 ± 10.0	8.0 ± 2.1
Дельтаметрин	67.5 ± 9.7	10.0 ± 3.3
МЖ + дельтаметрин	72.5 ± 11.2	0
Тиаметоксам	77.5 ± 8.7	0
МЖ + тиаметоксам	67.5 ± 9.3	15.0 ± 3.6

Кроме того, установлено ингибирующее действие МЖ как отдельно, так и в сочетании с фипронилом и дельтаметрином на репродукцию самок, питавшихся листьями обработанных растений. Выявлено, что в полевых условиях действие МЖ на уровне целого растения в значительной степени зависело от сортовых особенностей. Эти данные позволяют предположить, что МЖ, индуцируя каскад защитных реакций растения, приводит в действие «спящие гены», контролируемые механизмы, способные модулировать нейротоксическое действие инсектицидов. Одним из таких механизмов может быть индукция выделения сесквитерпенов, оказывающих ингибирующее действие на насекомых [Noge et al., 2011]. Очевидна необходимость учета этого влияния при оценке эффективности инсектицидов и прогнозе результатов их применения.

Работа частично поддержана грантом РФФИ № 15-04-04801-а.

Библиографический список (References)

DeCoursey T.E. Voltage-gated proton channels: molecular biology, physiology and pathophysiology of H_v family // *Physiol. Rev.*, 2013. V. 93. P. 599–652.
Farmer E.E., Ryan C.A. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves // *PNAS*, 1990. V. 87. P. 7713–7716.

Noge K., Abe M., Tomogami S. Phenylacetonitrile from the Giant Knotweed, *Fallopia sachalinensis*, infested by Japanese beetle, *Popillia japonica*, is induced by exogenous methyl jasmonate // *Molecules*, 2011. V.16. P. 6481–6488.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 24–26

JASMONATE INDUCED SYSTEM OF MOBILE WOUND RESPONSE IN POTATO PLANT MODULATES THE ACTIVITY OF INSECTICIDES

G.V. Benkovskaya¹, I.S. Mardanshin²

¹*Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS*

²*Bashkir Scientific Institute of Agriculture of RAAS, bengal2@yandex.ru*

Aims: to test the assumption about synergistic action of methyl jasmonate and some of chemical insecticides toward the *Leptinotarsa decemlineata* Say larvae. Methods: feeding of L decemlineata larvae by the leaves of potato from plants infused by methyl jasmonate and insecticide (fipronil, deltamethrin or thiamethoxam) during development time to adult eclosion. Results:

methyl jasmonate enhanced the negative impact of fipronil and deltamethrin decreasing the number of adult whereas tiamethoxam activity dropped by methyl jasmonate. Application field: development of new approach for effectiveness estimation of chemical and biological tools of Colorado beetle number control. Conclusion: methyl jasmonate induced the defense reactions cascade in plants and activated the mechanisms modulating the neurotoxic influence of insecticides. The necessity is clear of taking into account these effects during evaluation of insecticides effectiveness.

УДК 57.085.2

СОДЕРЖАНИЕ ПОЛИФЕНОЛОВ В КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУРАХ КЛЮКВЫ БОЛОТНОЙ ПРИ МОДИФИКАЦИИ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ЦИТОКИНИНАМИ И ПРЕПАРАТАМИ МИКРОМИЦЕТОВ

Е.В. Березина, М.Н. Агеева, А.А. Брилкина, А.П. Веселов

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия,
berezina.kat@gmail.com

Цель работы – выявить влияние присутствия различных цитокининов, а также культуральной жидкости и мицелия микромицетов в питательной среде на накопление фенольных соединений в каллусных культурах клюквы болотной. Для выращивания каллусов использовали среду Андерсона. Анализировали суммарное содержание фенольных соединений, флавоноидов, катехинов, процианидинов в каллусах. Наиболее интенсивное накопление полифенолов у клюквы болотной отмечено на среде с α -нафтилуксусной кислотой и изопентениладенином. Суммарное накопление полифенолов в присутствии культуральной жидкости выше, чем в присутствии мицелия микромицетов. Результаты исследования дают основу для разработки наиболее оптимальных составов питательных сред с целью получения клеточных линий-продуцентов биологически активных вторичных метаболитов при сохранении естественных популяций растений.

Ключевые слова: фенольные соединения, каллусы, фитогормоны, *Oxycoccus palustris*, *Trichoderma virens*, *Alternaria alternata*.

Актуальные в XXI в. биотехнологии можно с успехом применять для решения задачи получения биологически активных веществ (БАВ), т.к. химический синтез природных соединений нередко очень дорогой, а может быть и вовсе не реализуемым технологически. Однако в условиях *in vitro* растительные клетки не всегда синтезируют БАВ в большом количестве. Проблему снижения биосинтетического потенциала клеток можно решить несколькими способами: оптимизация состава питательной среды, клеточная селекция, иммобилизация клеток, добавление в среду предшественников либо элиситоров, генетическая инженерия [Shilpa et al., 2010]. Следует учесть, что не только разные виды растений, но даже разные сорта предъявляют различные требования к условиям выращивания *in vitro* [Ostrolucká et al., 2010], поэтому подбор питательных сред и условий культивирования является важным этапом в биотехнологических работах, особенно в случае решения задачи получения сверхпродукции интересующих метаболитов. Цель работы – выявить влияние присутствия различных цитокининов, а также культуральной жидкости и мицелия микромицетов в питательной среде на накопление фенольных соединений в каллусных культурах клюквы.

Объектом исследования являлись каллусы клюквы болотной (*Oxycoccus palustris* Pers.). Каллусы культивировали на свету на питательной среде Андерсона. В качестве компонентов, модифицирующих состав базовой среды, использовали фитогормоны по 0.5 мг/л: α -нафтилуксусную кислоту (НУК) в сочетании с цитокининами (кинетин (Кин), или 6-бензиламинопурин (БАП), или 2-изопентениладенин (иП)); автоклавированный и высушенный мицелий микромицетов *Trichoderma virens* и *Alternaria alternata* (50, 500 или 5000 мг/л), культуральную жидкость после их

выращивания (КЖ; 5, 50 или 500 мл/л). В 80% этанольных вытяжках из каллусных культур определяли содержание суммы растворимых фенольных соединений (СРФС), флавоноидов, катехинов и процианидинов с использованием спектрофотометра UV-1700 (Shimadzu). Также оценивали частоту каллусообразования, оводненность каллусной ткани и индекс роста по сырой и сухой биомассе.

Максимум каллусообразования выявлен в варианте с НУК/Кин – 84%. Суммарное содержание растворимых фенольных соединений после 0 пассажа варьировало в пределах от 6 до 18 мг/г сырой массы в зависимости от фитогормонального состава среды. При дальнейшем пассировании (каждые 4 недели) содержание полифенолов, как правило, уменьшалось или имело соответствующую тенденцию.

Анализ еженедельных (в течение 7 недель) измерений содержания фенольных соединений на протяжении 4 пассажа показал, что биосинтетическая способность каллусных культур постепенно возрастала, достигая максимума к 5 неделе, после чего снижалась. На 5 неделю (реже на 4 или 6) приходился переход к стационарной фазе роста, что было определено по сырой и сухой биомассе каллусов. Наиболее интенсивное накопление полифенолов у клюквы болотной отмечено на среде с НУК/иП.

К концу 7 пассажа разброс значений в содержании СРФС составлял от 2 до 6 мг/г сырой массы, т.е. заметно снизился по сравнению с 0 пассажем. При этом фенольный метаболизм имеющихся культур в течение 7 пассажей оставался нестабильным. С целью возможной стимуляции вторичного синтеза на 8 пассаже каллусы, выращиваемые на среде с НУК/Кин, поместили на среду, дополнительно содержащую препараты микромицетов (мицелий *T. virens* и *A. alternata* или КЖ).

Добавление элиситоров в малых концентрациях, как правило, приводило к повышению прироста биомассы каллусных культур, не связанного с увеличением их оводненности. Суммарное накопление полифенолов в присутствии КЖ было выше, чем в присутствии мицелия. Добавление КЖ *T. virens* во всех используемых концентрациях и КЖ *A. alternata* в концентрации 5, 50 мл/л способствовало увеличению доли флавоноидов и процианидинов в фенольном комплексе. Ежедневная регистрация уровня фенольных соединений после 8 пассажа позволила выявить период максимального накопления полифено-

лов: до третьей недели при добавлении КЖ *T. virens* или *A. alternata*; до 4 недели в присутствии сухого мицелия *A. alternata*. На пятой неделе содержание полифенолов в вариантах с добавками стабилизировалось либо снизилось по сравнению с 4 неделей. Результаты исследования будут использованы для разработки наиболее оптимальных составов питательных сред с целью получения клеточных линий-продуцентов биологически активных вторичных метаболитов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-34-00529 мол_а.

Библиографический список (References)

Ostrolucká M.G., Gajdošová A., Ondrušková E., Latečková M., Libiaková G. Effect of medium pH on axillary shoot proliferation of selected *Vaccinium vitis-idaea* L. cultivars // Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica, 2010. V. 52. N 2. P. 92–96.

Shilpa K., Varun K., Lakshmi B.S. An alternate method of natural drug production: eliciting secondary metabolite production using plant cell culture // J. Plant Sci., 2010. V. 5. Iss. 3. P. 222–247.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 26–27

POLYPHENOLS CONTENT IN CALLUS CULTURES OF CRANBERRY UPON MODIFICATION OF CULTURE MEDIUM WITH CYTOKININS AND MICROMYCETES PREPARATIONS

E.V. Berezina, M.N. Ageeva, A.A. Brilkina, A.P. Veselov

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, berezina.kat@gmail.com

The highest rate of polyphenolic compounds' accumulation in cranberry is recorded on medium containing α -naphthylacetate and isopentenyl adenine. Total accumulation of polyphenolic compounds in presence of cultural filtrate is higher as compared to mycelium of micromycetes. These results provide basis for development of optimal culture media for cell lines used as producers of biologically active secondary metabolites while preserving the natural plant populations.

УДК 595.729(470)

АРЕАЛ И ЗОНЫ ВРЕДНОСТИ БОЛЬШОЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ ТЛИ *MACROSIPHUM EUPHORBIAE* (THOMAS) (НОМОПТЕРА, АРНИДИДАЕ, MACROSIPHUM)

М.Н. Берим, М.И. Саулич

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, berim_m@mail.ru

В статье дана карта распространения и зон вредности большой картофельной тли. Приводятся биологические и экологические особенности вида, объясняющие причины его распространения и вредности; критерии оценки степени вредности. В основу создания карты легли литературные источники, собственные наблюдения, данные с всасывающей ловушки.

Ключевые слова: тля, картофель, распространение, зона вредности.

Большая картофельная тля *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) распространена широко, как в азиатской, так и в европейской части России [Шапошников, 1964]. Вид встречается в Европе, Передней и Средней Азии, Северной Америке. На территории стран бывшего СНГ отмечается практически повсеместно, где выращиваются его растения-хозяева; северная граница ареала проходит, в основном, по северной границе выращивания картофеля. В закрытом грунте вредитель встречается и севернее.

Четкой границы распространения вида на север в России не имеется, однако по литературным источникам [Шапошников, 1964, 1972; Ивановская, 1976] она проходит по южной границе Мурманской, захватывая самую южную часть Архангельской области. Эта граница совпадает с северной границей выращивания картофеля. Поскольку насекомое имеет неполный цикл развития, зимуют парте-

ногенетические самки в северных регионах на сорняках в укрытиях, в более южных – открыто. Перезимовывая в теплицах, наносят большой вред весенней рассаде томатов, перцев, зеленым культурам. Эмбриональное развитие наблюдается при температуре воздуха 5–6 °С, активное питание при температуре – выше 12–13 °С. Для успешного развития популяции необходима сумма эффективных температур более 10 °С – 700–800°. Северо-Запад России характеризуется умеренно-теплым климатом с увлажнением от избыточного до умеренного. Это зона хвойных лесов с луговыми и остепненными участками, где встречаются отдельные особи насекомого, хотя по данным последних пяти лет, полученных со всасывающей ловушки и полевым обследованием численность вида в Ленинградской области существенно увеличилась. По-видимому, это связано с изменением климата в пользу потепления.

Большая картофельная тля повреждает картофель, томат, баклажан, огурец, салат, капусту, перец, бахчевые, сельдерей и другие культуры. Причем картофель повреждает, в основном, в августе – сентябре; баклажаны – в июле; томаты – в июле–сентябре. У каждого вида растений повреждение имеет свои особенности. На листьях огурца появляется желтая сеточка. На листьях томата видны круглые хлоротичные пятна в местах питания тли. Поврежденные листья засыхают. Выделяемые насекомыми экскременты загрязняют растения, вызывая развитие грибковых заболеваний.

Зоны различной вредоносности выделены согласно критериям, представленным в литературных источниках [Бобрышев и др., 1972; Чечуев, 1973; Хандыбаренко, 1981; Жукова, 2000]. Северная граница зоны низкой вредоносности проходит по северной границе Литвы, Белоруссии, Смоленской, Московской областей, Татарии и Башкирии. В данной зоне растения периодически повреждаются по

1–2 баллу [Драховская, 1962]. Зона высокой вредоносности включает южные регионы Европейской части России, Украины, Молдавию, где в отдельные годы растения повреждаются по 3 баллу. Насекомое встречается на Урале, в Сибири, однако всплеск массового размножения не дает из-за длительного зимнего периода с температурами ниже -20°C [Ивановская, 1976]. Вредитель отмечается в Амурском крае [Дьяконов и др., 1994]. Встречается в Средней Азии, Казахстане, однако летние температуры выше 30°C при низкой влажности губительно действуют на развитие популяции [Невский, 1929].

Векторная карта (см. рис.) создана в масштабе 1:20000000 в проекции «Равновеликая Альберса на СССР», 9, 1001, 7, 100, 0, 44.0, 0 средствами ГИС-технологий (MapInfo Professional v. 9.0). При выполнении карты использованы векторные карты, характеризующие посевы картофеля, томатов и других с.х. культур на территории СНГ.

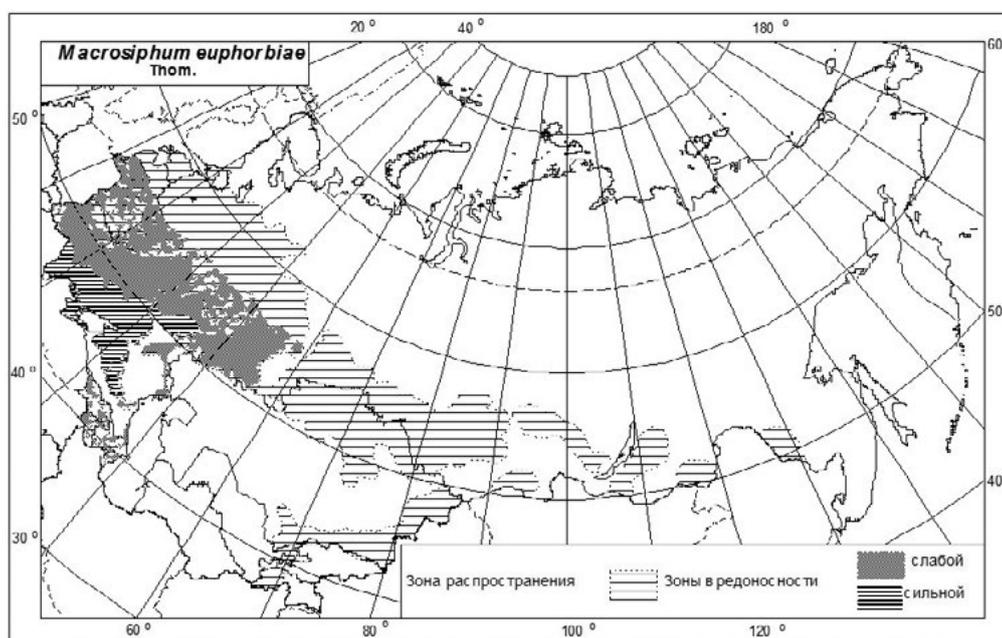


Рисунок. Векторная карта зон распространения и вредоносности большой картофельной тли

Библиографический список (References)

- Бобрышев Ф.И., Чмулев В.М., Удовицкий А.С., Захаров А.И. Динамика лета тлей на посадках картофеля. // Защита растений от вредителей и болезней. Сборник научных трудов Ставропольского с.х. института. Ставрополь: Ставропольский СХИ, 1972. с. 102–105.
- Драховская М. Прогноз в защите растений. М.: изд-во с.х. литературы. 1962, 165 с.
- Дьяконов К.П., Романова С.А., Леднева В.А. Новый интерес к большой картофельной тле. // Защита растений, 1994. N 5. с. 40–42.
- Жукова М.И. Тли на картофеле в Белоруссии и средства борьбы с ними. // Ахова аслін, 2000. N 4. с. 16–18.
- Ивановская О.И. Фауна тлей Западной Сибири. // Фауна гельминтов и членистоногих Сибири. Новосибирск: Наука, 1976. с. 175–189.
- Невский В.П. Тли Средней Азии. // Материалы УЗОСТАЗРА. Ташкент, 1929. с. 58–73.
- Шапошников Г.Х. Подотряд Aphidinea – тли. // В кн.: Определитель насекомых Европейской части СССР. 1964. Т.1. М.-Л.: Наука. с. 612.
- Шапошников Г.Х. Отряд Homoptera – равнокрылые. Подотряд Aphidinea – тли. // В кн.: Насекомые и клещи – вредители сельскохозяйственных культур. 1972. Т. 1. Ленинград: Наука. с. 183.
- Хандыбаренко Т.Т. Обоснование агробиологических приемов защиты семеноводческих посевов картофеля от тлей – переносчиков вирусов (автореферат канд дисс.). Киев. Укр.НИИЗР. 1981. 41 с.
- Чечуев Н. Тли на картофеле в Казахстане. // Картофель и овощи, 1973. N 6. с. 41.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 27–28

THE AREA AND ZONES OF HARMFULNESS OF POTATO APHID *MACROSIPHUM EUPHORBIAE* (THOMAS) (HOMOPTERA, APHIDIDAE, MACROSIPHUM)

M.N. Berim, M.I. Saulich

All-Russian Institute of Plant Protection, info@vizr.spb.ru

The area and damage zones of *Macrosiphum euphorbiae* Thom. are described. Analysis of biological and ecological features of species can explain spreading of insects on different territories. The published materials alongside with original field observations and data from sucking trap were used to distinguish zones of harmfulness.

УДК 632.937.3

УСТОЙЧИВОСТЬ К СТРЕССУ КАК ФАКТОР АККЛИМАТИЗАЦИИ *HARMONIA AXYRIDIS* (COCCINELLIDAE, COLEOPTERA)

Н.В. Биницкая, Н.А. Белякова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
belyakovana@yandex.ru

При дефиците корма у самок и самцов *Harmonia axyridis* вес имаго снижается пропорционально. Соотношение веса самок и самцов стабильно и не зависит от продолжительности голодания личинок 4 возраста. Стабильность размерного полового диморфизма имаго является видовой, а не популяционной особенностью *H. axyridis*. Отличий между инвазионной европейской и азиатскими популяциями по данному показателю не выявлено. Стабильность размерного полового диморфизма и пропорциональное изменение веса имаго при недостатке корма на личиночной стадии является важным адаптационным механизмом *H. axyridis* и отчасти определяет ее высокий адаптационный потенциал.

Ключевые слова: энтомофаги, *Harmonia axyridis*, акклиматизация, пищевой стресс.

Работы по интродукции хищных кокцинеллид были начаты в ВИЗР более 80 лет назад. Для акклиматизации на Европейской части РФ в качестве перспективных энтомофагов были отобраны 7 видов, в том числе *Harmonia axyridis* Pall., которую предполагалось использовать против тлей в плодовых садах. Первые выпуски коровок рода *Harmonia* в Закавказье были проведены в 30-е годы XX века. Однако акклиматизировавшихся популяций выявить не удалось [Савойская, 1983]. Поэтому в дальнейшем *Harmonia axyridis*, *H. conformis* и *H. dimidiata* использовали на Черноморском побережье Кавказа методом сезонной колонизации, размножая лабораторные популяции этих энтомофагов на биофабриках [Кузнецов 1988]. Сложилось мнение, что акклиматизация этих видов в Закавказье требует дополнительных массовых выпусков [Савойская, 1983].

В 2012 г. в Сочи найдены очаги размножения *H. axyridis* [Белякова, Поликарпова, 2012]. Это свидетельствует о перезимовке и начале акклиматизации *Harmonia axyridis* на Черноморском побережье Кавказа. Для оценки сложившейся ситуации необходимо выявить факторы акклиматизации *Harmonia axyridis* на Черноморском побережье Кавказа, а также сравнить природных насекомых с лабораторными популяциями данных видов, а также не инвазивных видов рода *Harmonia*.

У коровок пищевой стресс на личиночной стадии (недостаток корма или его низкое качество) как правило, вызывает снижение выживаемости и среднего размера имаго, а также замедляет скорость развития. Однако возможны исключения, в частности наши опыты показывают, что голодание в течение последних 1–2 дней личиночного развития не влияют на его продолжительность.

Задачей нашей работы является выявление динамики и взаимосвязи трех показателей: размера тела, выживаемости и продолжительности развития у самцов и самок *H. axyridis* при дефиците корма и разных температурах. Решение данной задачи позволит оценить адаптационный потенциал *H. axyridis*.

Объектами исследования являлись лабораторные популяции *H. axyridis* из коллекции ВИЗР, сформированные в 2008–2014 г. Места сборов природного материала Иркутская обл., Казахстан, Чехия, Сербия, Черноморское побережье Кавказа, Приморский край.

Личинок после линьки на IV возраст в течение 2 дней содержали при избытке корма (злаковой тли), затем еже-

суточно проводили отбор особей для опыта. Отобранных личинок взвешивали на весах Shinko HTR-80CE. Затем подопытных особей содержали индивидуально без корма до вылета имаго или гибели. Взвешивания личинок проводили ежедневно для оценки снижения веса при отсутствии пищи. Учитывали долю окуклившихся особей, долю и вес вылетевших имаго, а также соотношение полов.

Степень проявления размерного полового диморфизма (Sexual Size Dimorphism – SSD) оценивали по соотношению веса самок и самцов. Имаго взвешивали в течение суток после выхода из куколки. До взвешивания жукам не давали воды и пищи. За счет этого приема вес имаго строго коррелирует с линейными размерами, что было показано нами в предыдущих исследованиях. Использование веса для оценки SSD позволяет сравнивать разные виды, которые отличаются формой тела.

Для статистического анализа изменений веса имаго использовалась модель регрессии II типа, которая была выбрана потому, что требовалось оценить параметры уравнения регрессии ($y = x \times b_1 + b_2$), описывающего функциональные отношения между двумя неуправляемыми переменными X (вес самок) и Y (вес самцов), каждая из которых варьирует независимо друг от друга. Регрессионный анализ проводили редуцированным методом главных осей (Reduced Major Axis – RMA) в программе Statistica 10. RMA ранее был использован для анализа SSD у насекомых, в том числе у коровок. Для статистической обработки данных использовали дисперсионный и регрессионный анализ (логистическая модель), который проводили с помощью пакета статистических программ Statistica v.8.

Коэффициент размерного полового диморфизма (SSD) у имаго *H. axyridis* варьирует от 1.0 до 1.3, но при этом данные колебания не связаны с изменением веса имаго. Соотношение размеров самцов и самок в целом остается стабильным.

С нашей точки зрения, стабильность SSD и пропорциональное изменение веса имаго при недостатке корма на личиночной стадии является важным адаптационным механизмом *H. axyridis* и отчасти определяет ее высокий адаптационный потенциал.

Размах внутривидовой изменчивости по размеру определяет способность вида выжить в условиях дефицита корма. Если вид отличается низкой изменчивостью размера имаго, то при дефиците корма стадии имаго достигают единичные особи. Выживаемость личинок снижается ка-

тастрофически. Большая часть популяции гибнет. Выжившие имаго, которым удалось добыть необходимое количество пищи для завершения личиночного развития, имеют размер близкий к среднему для вида и, как следствие сохраняют удовлетворительный репродуктивный потенциал. В популяции работает принцип «лучше меньше, да лучше». Риск в данном случае заключается в разрежении популяции, и связанной с этой проблемой встречи полов (эффект Олли).

Если у вида размер имаго варьирует в широких пределах, то это повышает шансы на выживание при дефиците корма. Часть особей в популяции завершают личиночное развитие, не достигнув средних для вида размеров. В результате формируются мелкие имаго. В популяции повышается выживаемость за счет снижения размера имаго. Риск заключается в том, что уменьшение размера имаго, как правило, негативно отражается на плодовитости и других показателях репродуктивного потенциала. Популяция выживет, если мелкие самки оставят потомство.

Библиографический список (References)

- Белякова Н.А. Поликарпова Ю.Б. Акклиматизация *Harmonia axyridis* Pall. и *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coccinellidae, Coleoptera) на Черноморском побережье Кавказа. // Вестник защиты растений. 2012. № 4. С. 43–48.
- Савойская Г.И. Кокциnellиды Алма-Атинского заповедника // Труды Алма-атинского государственного заповедника, Алма-Ата, 1970, Т. 9, Вып. 2, С. 163–187.
- Кузнецов В.Н. Дальневосточные кокциnellиды в Закавказье // Защита растений, 1988. Вып. 5. С. 19.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 29–30

STRESS RESISTANCE AS FACTOR OF ACCLIMATIZATION *HARMONIA AXYRIDIS* (COCCINELLIDAE, COLEOPTERA)

N.V. Binizkaya, N.A. Belyakova

All-Russian Institute of Plant Protection, belyakovana@yandex.ru

Body size, survival rate and duration of development were estimated in *H. axyridis* with a deficit of food and different temperatures. At deficiency of food in male and female adults *H. axyridis* weight is reduced proportionally. Stability size sexual dimorphism in adults is a species rather than a population feature *H. axyridis*. Differences between invasive European and Asian populations of this indicator is not revealed. The stability of the size of sexual dimorphism and the proportional change in the weight of adults with a lack of food in the larval stage is an important adaptive mechanism *H. axyridis* and partly determines its high adaptive capacity.

УДК 632.937

ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АКТИНОМИЦЕТОВ – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ИНСЕКТИЦИДНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ

И.В. Бойкова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
vizrspb@mail333.com

Приведены результаты исследований в области исследования инсектицидной активности вторичных метаболитов актиномицетов из коллекции ВИЗР. На основе этих соединений разработаны новые биопрепараты для борьбы с вредными беспозвоночными.

Ключевые слова: микроорганизмы-продуценты, ингибиторы протеаз, фиторегуляторная активность, инсектицидная активность, метаболитный комплекс.

Важнейшим элементом стратегии современной, экологически безопасной защиты сельскохозяйственных культур от вредителей является микробиологическая защита, которая базируется на комплексном использовании различных физиологических групп микроорганизмов, а также токсичных препаративных форм микробного происхождения. Наиболее перспективными в этой связи представляются почвенные микроорганизмы, в частности актиномицеты. Расширение сведений об объеме и разнообразии актиномицетов, их месте среди прочих микробов, населяющих почву, развивает наши представления о них, как продуцентах специфических биологически активных веществ и вызывает огромный интерес к изучению их биологии, физиологии и систематики. Актиниомцеты в большом количестве встречаются в почве благодаря их способности легко адаптироваться к среде обитания и

довольствоваться органическими соединениями, которые непригодны для других микроорганизмов. Они широко распространены в почвах всего земного шара, однако на их качественный и количественный состав значительное влияние оказывает географическое положение местности, тип почвы, ее химические и физические свойства, окультуренность, влагоемкость и другие особенности. По данным исследований распространенности и видового разнообразия актиномицетов, культуры рода *Streptomyces* составляют 80–95% от всех актиномицетов, населяющих почву, а среди известных биоактивных микробных вторичных метаболитов подавляющее большинство продуцируются актиномицетами, 80% которых относятся к роду *Streptomyces*. Большое разнообразие обнаруженных в природе продуктов вторичного обмена актиномицетов включает огромное число химических структур. Они представлены алифати-

ческими, карбоциклическими и гетероциклическими, азотистыми, кислород- и серусодержащими соединениями, в молекулах которых находятся самые различные функциональные группы: эфирные, карбоксильные, окси-, эпокси-, amino-, нитрогруппы. Следует отметить, что в пределах отдельных групп актиномицетов большинство вторичных соединений имеет ограниченное распространение. Чем больше химических реакций необходимо для синтеза какого-либо вторичного соединения, тем обычно более ограничено его распространение. То есть вероятность того, что в процессе эволюции данный путь обмена выработался независимо у различных групп микроорганизмов, уменьшается по мере усложнения конечного продукта этого пути. Поэтому образование вторичных метаболитов сложного химического строения может служить удобным критерием для установления связи между различными группами микроорганизмов и, следовательно, имеет важное значение для хемотаксономии. С другой стороны, вторичные соединения действуют в природе в качестве аллелохимических агентов т.е. веществ, способствующих взаимодействию между видами.

Большинство выделенных вторичных метаболитов, синтезируемых актиномицетами, обладают антибиотическими свойствами (антимикробными, противовирусными), однако, описан ряд веществ с другим характером биологического действия: ингибиторы ферментов, гербициды, инсектициды, находящие применение в растениеводстве.

В результате исследований, проводимых в ВИЗР, из почв различных географических регионов выделено 1523 штамма актиномицетов, 320 из которых обладали инсектицидной активностью.

Первый препарат, который мы разработали на основе штамма *S. aurantiacus* был алейцид. Препарат прошел широкие вегетационные и производственные испытания в Ленинградской области, Таджикистане, Белоруссии, Грузии и показал высокий защитный от комплекса вредных сосущих членистоногих, в том числе от оранжерейной белокрылки на всех стадиях ее развития. Суммарное действие алейцида складывалось из ряда летальных показателей – токсического эффекта и последствия препарата с гибелью на последующих стадиях развития, снижением жизнеспособности насекомых. К недостаткам препарата можно отнести его фитотоксичность, которая проявлялась даже при незначительном превышении рекомендуемых концентраций. Причиной фитотоксичности было присутствие в активном метаболитном комплексе токсичного антибиотика мемомидина. Показано, что основное действующее вещество, обладающее высокой инсектицидной активностью, оригинально и представляет собой 9-деметилперицидин.

Два препарата, разработанных нами на основе штаммов *S. loidensis* и *S. herbaricolor* – индоцид и гербен, эффективные в отношении большой группы сосущих членистоногих (тлей, паутинного клеща, оранжерейной белокрылки), хлопковой совки, галловой нематоды. Инсектицидный компонент индоцида представляет собой аморфный порошок светло-желтого цвета с $T_{пл.}=230-240^{\circ}\text{C}$, оптически неактивный в метаноле; хорошо растворимый в воде, метаноле, бутаноле, диметилсульфоксиде; не растворимый в ацетоне, этилацетате, эфире и хлороформе. В УФ-спектре

имеется выраженный максимум поглощения при 209 нм и широкие максимумы поглощения в области 255–265 нм и 270–280 нм. Элементный состав активного компонента: С 63.45; Н 7.1; N 12.7. Анализ ИК-, ЯМР-спектров позволил отнести данное вещество к полипептидам. Среди продуктов кислотного гидролиза обнаружены треонин, серин, глутаминовая кислота, глицин, аланин, лейцин (изолейцин), лизин, валин, пролин, глутамин. Молекулярная масса составляет 1207 е.м. Выделенный компонент слабо активен в отношении дрожжей и грибов, неактивен в отношении $\Gamma(+)$ и $\Gamma(-)$ – бактерий. Сравнение индоцида по физико-химическим и биологическим характеристикам с полипептидами, описанными в литературе, позволяет отнести его к группе пептидолактонов типа микамицина-В и считать оригинальным соединением.

Штамм *S. cremeus biovar. octemberanum var. nov.*, продуцент комплекса вторичных метаболитов с инсектицидной активностью, выделен в результате направленного поиска микроорганизмов-продуцентов ингибиторов протеаз: трипсина и химотрипсина. Ингибиторы протеаз привлекают к себе внимание как инструменты исследования в различных областях науки, расширяется их применение в медицине и сельском хозяйстве. Изучение новых ингибиторов, сложного механизма их действия и всего многообразия последствий их действия на различные типы клеток или изучение действия известных ингибиторов на новые системы приводят к новым представлениям об основных принципах организации биологических систем.

Выделенный штамм проявлял высокую инсектицидную активность в отношении *Myzodes persicae*, а также антагонистическую активность в отношении фитопатогенных грибов и бактерий. Установлено, что ингибитор протеаз из штамма *S. cremeus biovar. octemb. nov.* представляет собой низкомолекулярный пептид. Изучение ингибиторных свойств штамма в лабораторных условиях с использованием в качестве субстратов казеина и БАПНА показало его высокую активность в отношении ряда протеаз: трипсина, химотрипсина, фибринолизина, калликреина, папаина. Оценка биологической активности антитрипсинового компонента метаболитного комплекса показала, что через 2 часа после обработки 0.1% раствором препарата наступала гибель 90% старших возрастов персиковой тли.

В настоящее время наша коллекция стрептомицетов – продуцентов соединений с высокой инсектицидной и фиторегуляторной активностью составляет 32 штамма. Штаммы перспективны для создания на их основе новых биопрепаратов. Многие – идентифицированы до вида, охарактеризованы их биологические свойства, определен состав активных метаболитных комплексов, проведена первичная идентификация основных действующих веществ.

Таким образом, биологические инсектициды на основе стрептомицетов зарекомендовали себя, как эффективные средства борьбы с вредными членистоногими. Им присуща специфичность, низкая токсичность, а также способность к деградации в естественных круговоротах веществ, что позволяет не нарушать природное равновесие при их использовании. Разнообразие их химической природы обуславливает низкую степень адаптации к ним вредных насекомых.

SECONDARY METABOLITES OF ACTYNO MYCETES AS A BASIS FOR DEVELOPMENT OF NOVEL INSECTICIDAL BIOFORMULATIONS

I.V. Boikova

All-Russian Institute of Plant Protection, vizrsps@mail333.com

Results of research in the field of insecticidal activity of secondary metabolites of actinomycetes from collection of All-Russian Institute of Plant Protection are discussed. On the basis of these compounds, novel bioformulations for control of harmful invertebrates.

УДК 579.61:582.31

БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕОСФЕРИДА А, МЕТАБОЛИТА ГРИБА *PARAPHOMA* SP.

К.П. Большакова¹, В.В. Абзианидзе², А.О. Берестецкий³

¹Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, Санкт-Петербург, Россия, bolschakovaxenia@yandex.ru

²НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека, Санкт-Петербург, Всеволожский р-н, гп. Кузьмолковский, Россия

³Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Феосферид А (PPA), выделенный из гриба *Paraphoma* sp. обладает фитотоксической и противораковой активностью. Были синтезированы и охарактеризованы производные PPA. Так же обнаружено, что хлорацетильное производное обладает большей эффективностью, чем PPA на клетках А549.

Ключевые слова: природный феосферид А, биорациональные гербициды, клеточная линия А 549, противораковые средства.

В настоящее время ухудшающаяся экологическая обстановка и необходимость заботы о здоровье человека вынуждают искать альтернативные, более безопасные методы защиты растений. Но применение биологических средств, главным достоинством которых является их абсолютная экологичность, имеет и недостаток – низкую эффективность [Груздев, 1980]. Одним из способов увеличения биологической активности природных веществ является химическая модификация их структуры [Солдатенков, 2001].

Природный феосферид А (PPA) (рис. 1), обладающий гербицидной и противоопухолевой активностью, был впервые выделен в 2006 году из экстрактов эндофитного гриба *Phaeosphaeria avenaria* 39 [Maloney, 2006]. Мы впервые предприняли попытку оптимизировать структуру данного соединения с целью повышения его биологической активности.

Наличие нескольких реакционных центров в молекуле феосферид А предоставляет несколько возможностей для его модификации. Феосферид А оказался способным

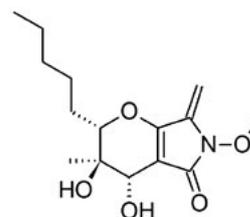


Рисунок 1. Структурная формула природного феосферид А

вступать в реакции гидролиза, ацилирования по вторичной гидроксигруппе и нуклеофильного присоединения по электрон-дефицитной кратной связи. Нами были получены продукты 1–8 (рис. 2). Некоторые соединения были протестированы на листовых дисках тестовых растений (бодяка полевого и пырея ползучего) и на раковых клетках А549.

По результатам тестов на фитотоксичность на листовых дисках бодяка полевого и пырея ползучего можно отметить резкое снижение активности тех соединений, где была затронута экзо-кратная связь, а соединения, в кото-

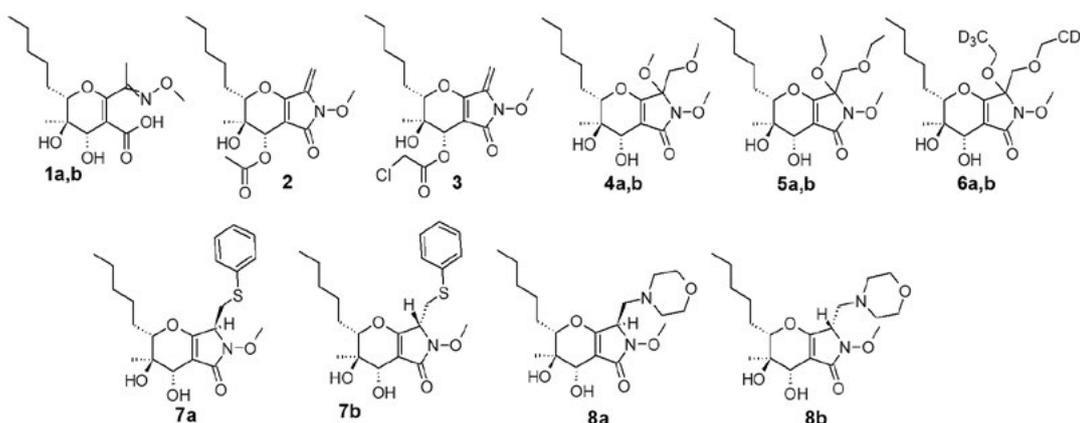


Рисунок 2. Структурные формулы производных феосферид А

рых помимо этого отсутствовала еще и метокси группа, активности не проявили совсем. Похожей на феосферид А активностью обладало соединение, в котором была затронута гидроксильная группа у атома С6 (рис. 3).

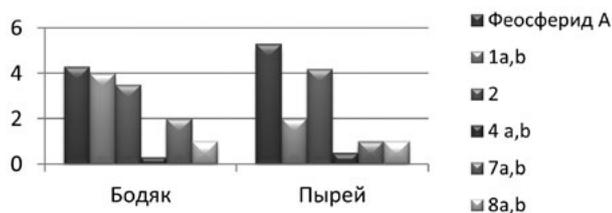


Рисунок 3. Фитотоксическая активность феосферид А и его производных на тестовых сорных растениях (бодяк полевой и пырей ползучий)

Интересно, что активность по показателю EC50 вышеперечисленных соединений в отношении раковой линии А549 находится в такой же динамике, что и в случае тестов на листовых дисках растений (табл.). Так, продукты 1,4 оказались совсем неактивными. Активность на уровне феосферид А обнаружило соединение 2. Активность

выше феосферид А на опухолевых клетках проявил продукт ацилирования 3. Он ещё не был испытан на растениях, но имеет все шансы так же оказаться более эффективным, чем исходное соединение.

Таблица. Значения EC50 феосферид А и его активных производных в отношении раковой линии А549

Соединение	EC ₅₀ (95% доверительный интервал), μМ
PPA	46 (41–51)
2	49 (42–58)
3	33 (26–41)

Из этого следует, что присутствие экзоциклической связи С=C и Weinreb-амидной группы в производных PPA является, вероятно, необходимым условием для наличия у них как гербицидной, так и противоопухолевой активности.

Проведенные опыты позволили обозначить путь для дальнейшей химической оптимизации биологической активности феосферид А и позволили определить важность сохранения экзо-кратной связи и метокси-группы в модифицируемом веществе.

Библиографический список (References)

Груздев Г.С. Химическая защита растений. М.: Колос, 1980. 448 с.
Солдатенков А.Т. Основы органической химии лекарственных веществ. М.: Химия, 2001. 192 с.

Maloney K., Hao W., Xu J., Gibbons J., Hucul J., Roll D., Brady S., Schroeder F., Clardy J. Phaeosphaeride A, a selective inhibitor of STAT3-dependent signaling isolated from an endophytic fungus. // Org. Lett. 2006, V8, P.4067.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 32–33

BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE DERIVATIVES OF PHAEOSPHERIDE A, A METABOLITE FROM *PARAPHOMA* SP.

K.P. Bolshakova¹, V.V. Abzianidze², A.O. Berestetskiy³

¹Saint Petersburg State University of Industrial Technologies and Design

²Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology

³All-Russian Institute of Plant Protection

Phaeosphaeride A, which is isolated from the endophytic fungus, *Paraphoma* sp. VIZR 1.46, was shown to be phytotoxic and to have anti-tumor activity. Derivatives of phaeosphaeride A (PPA) were synthesised and characterized. Then phytotoxic and anti-cancer studies were carried out. It was found that some derivatives displayed comparable phytotoxic and *in vitro* cytotoxicity to that of PPA, while chloroacetyl derivative turned out to have better efficacy towards the A549 cancer cell line.

УДК 633.11

КОМПЛЕКС АФК-РЕГУЛИРУЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ СЕПТОРИОЗОМ

Г.Ф. Бурханова, А.А. Каримов, И.В. Максимов

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, guzel_mur@mail.ru

Целью данной работы являлось изучение влияния инфицирования возбудителем септориоза на закономерности функционирования про-/антиоксидантной системы в контрастных по устойчивости растениях пшеницы. Показано, что в процессе патогенеза в устойчивых растениях пшеницы происходит многократное повышение уровня перекиси водорода за счет активации фермента пероксидазы, а также повышения экспрессии кодирующего его гена. С другой стороны, поддержание необходимого уровня перекиси водорода обеспечивалось снижением ферментативной и транскрипционной активности каталазы. Интересно, что в восприимчивых растениях повышение каталазной активности обусловлено синтезом ее фитопатогеном *S.nodorum*. Полученные данные указывают на перспективность использование таких признаков как экспрессия генов каталазы и пероксидазы и их ферментативная активность для отбора устойчивых форм растений.

Ключевые слова: *T.aestivum*, *T.timopheevii*, перекись водорода, пероксидаза, каталаза, экспрессия.

При инфицировании патогенами в растительных клетках запускается механизм интенсивной генерации перекиси водорода, от концентрации которой зависит развитие

устойчивости или восприимчивости растений [Novo-Uzal et al., 2013]. Перекись водорода является сигнальной молекулой, которая регулирует многие физиологические про-

цессы, в том числе продукцию фитоалексинов, открытие устьиц, экспрессию защитных PR-белков, формирование устойчивости и лигнификацию клеточных стенок [Novo-Uzal et al., 2013]. В то же время, длительное накопление перекиси водорода токсично для растений. В связи с этим у растений существует АФК-регулирующие ферменты, которые контролируют уровень активных форм кислорода [Kurahashi et al., 2015].

В нашей работе было проведено комплексное изучение содержания перекиси водорода и активности ферментов пероксидазы и каталазы, а также экспрессии их генов в растениях *Triticum aestivum* и *Triticum timopheevii*, различающихся по устойчивости к фитопатогену *Stragonospora nodorum* Berk. Показано, что в устойчивых растениях пшеницы при инфицировании уровень перекиси водорода быстро возрастает и превышает таковой у восприимчивых растений на протяжении всего опыта (данные не приведены).

Ферментативная активность пероксидазы и уровень ее экспрессии в ответ на заражение повышались в большей степени в устойчивых растениях *T. timopheevii* по сравнению с восприимчивыми растениями *T. aestivum* (рис. 1а, в), что коррелировало с внешним проявлением симптомов грибной инфекции (данные не приведены). Активация пероксидазы в ответ на инфицирование подтверждает мне-

ние о ее неспецифической функции в формировании ответа растений на стрессы [Novo-Uzal et al., 2013].

В устойчивых растениях *T. timopheevii* как активность каталазы, так и экспрессия данного гена снижается при инфицировании *S. nodorum* (рис. 1б, г). Поскольку перекись водорода является необходимым компонентом развития локальной и системной устойчивости растений, то подавление ферментативной активности каталазы, способной разрушать активные формы кислорода, способствует индукции защитного ответа в растениях пшеницы к *S. nodorum*.

При инфицировании в восприимчивых растениях пшеницы наблюдалось повышение активности каталазы (рис. 1б). Что интересно, уровень транскрипционной активности гена каталазы в растениях *T. aestivum* значительно не отличается от контроля (рис. 1г). Следовательно, растение не синтезирует данный фермент в ответ на инфицирование. Ранее была показана, что уровень перекиси водорода в инфицированных тканях растений снижается за счет синтеза и активации внеклеточной каталазы фитопатогеном *S. nodorum* [Максимов, 2013].

Таким образом, баланс АФК-регулирующих ферментов определяет протекание защитных реакций у растений и формирование совместимых или несовместимых взаимоотношений в системе «растение – патоген».

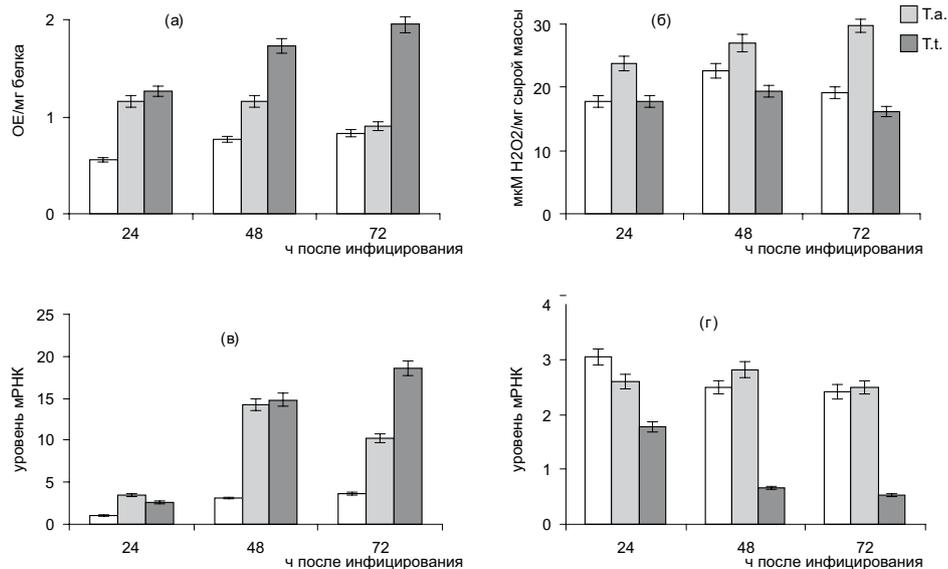


Рисунок 1. Ферментативная (а, б) и транскрипционная (в,г) активность пероксидазы (а,в) и каталазы (б,г) в восприимчивых *T. aestivum* и устойчивых *T. timopheevii* растениях пшеницы при инфицировании *S. nodorum*

Библиографический список (References)

- Максимов И.В., Ярулина Л.Г., Бурханова Г.Ф., Заикина Е.А. Связь агрессивности возбудителя септориоза с активностью внеклеточной каталазы // Известия РАН. Серия биологическая, 2013. N.5. С. 558–564.
- Kurahashi T., Fujii J. Roles of Antioxidative Enzymes in Wound Healing // Journal of Developmental Biology, 2015. T. 3. P. 57–70.
- Novo-Uzal E., Fernandez-Perez F., Herrero J. et al. From Zinnia to Arabidopsis: approaching the involvement of peroxidases in lignification // Journal of Experimental Botany, 2013. V. 64. N.12. P. 3499–3518.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 33–35

COMPLEX ROS-REGULATING ENZYME IN THE PROTECTION OF WHEAT PLANTS INFECTED *S. NODORUM*

G.F. Burkhanova, A.A. Karimov, I.V. Maximov

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS,
guzel_mur@mail.ru

The aim of this work was to investigate the effect of infection pathogen *S. nodorum* on the regularity functioning pro- / antioxidant system in wheat plants. It is shown that pathogenesis leads multiple increase of hydrogen peroxide level through enhanced activity and expression of peroxidase in resistant wheat plants. On the other hand, decrease enzymatic and transcriptional

activity of catalase provides the necessary level of hydrogen peroxide. In the susceptible plants high catalase activity is due to its expression phytopathogen *S.nodorum*. The findings are evidence of the use of such features as the expression of catalase and peroxidase genes and their enzymatic activity for the selection of resistant forms of plants.

УДК 581.1

РЕГУЛЯЦИЯ РОСТА РАСТЕНИЙ МЕТАБОЛИТАМИ СТРЕПТОМИЦЕТОВ ПОЧВ МОЛДОВЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

С.А. Бурцева¹, С.Н. Маслоброд², И.Г. Акири², А.А. Братухина¹, М.Н. Бырса¹

¹Институт микробиологии и биотехнологии АН Молдовы, Кишинев, Молдова, burtseva.svetlana@gmail.com

²Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, maslobrod37@mail.ru

Целью исследований было изучение влияния метаболитов стрептомицетов на семена сельскохозяйственных растений (тритикале, кукуруза, соя, табак). Установлено, что шт. *Streptomyces* sp. 9, 12 и 66 и их естественные варианты оказали положительное действие на семена тритикале. Экзометаболиты вар. 2 *Streptomyces* sp. 9 увеличили среднюю длину главного корня семян тритикале на 11.96%, вар. 11 *S. sp.* 12 увеличили количество корней на 13.79%, среднюю длину корней на 20.03%. Метаболиты штаммов 11, 22, 47, 49, 123, 154 и 182 увеличили количество корней на 5.5% – 19.4%, длину корней на 10.8% – 22.8%, а длину главного корня на 14.1% – 44.8% у семян кукурузы сорта «Дебют». На основе экзометаболитов *S. levoris* CNMN-Ас-01 и соли ванадия предложен комплексный препарат, увеличивающий индекс роста и сырую массу проростков семян сои сорта «Зенит». Экзометаболиты *S. massasporeus* CNMN-Ас-06 у семян табака сорта Burley увеличили всхожесть на 6.1% по сравнению с контролем. Количество листьев у опытных растений увеличилось на 12.0%, а их площадь – на 28.7% по сравнению с контрольными растениями.

Ключевые слова: *Streptomyces*, тритикале, кукуруза, соя, табак.

Известно, что синтез физиологически активных веществ, регулирующих рост и развитие растений, могут осуществлять те микроорганизмы, которые находятся в тесном контакте с растениями на протяжении длительного времени. К ним относят симбиотические бактерии, фитопатогенные грибы и бактерии и другие представители

ризосферной микрофлоры, в числе которых и актиномицеты. Важную роль в регуляции роста и развития растений играют фитогормоны, координирующие состояние покоя и прорастания семян, влияющие на корнеобразование, цветение, повышающие устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Таблица 1. Влияние метаболитов *Streptomyces* spp. на физиологические показатели семян тритикале

№ <i>Streptomyces</i> spp.	Среднее количество корешков		Средняя длина корешков		Средняя длина главного корня	
	Количество	%	см	%	см	%
H ₂ O (контроль)	4.35±0.15	100	6.34±0.22	100	9.11±0.03	100
9	4.65±0.22	106.89	4.05±0.25	63.88	6.43±0.09	70.58
Вар. 2	4.35±0.17	100	6.77±0.47	106.78	10.2±0.17	111.96
Вар. 6	4.2±0.37	96.55	5.29±0.11	83.43	9.26±0.17	101.64
Вар. 7	4.35±0.24	100	5.53±0.17	87.22	9.36±0.2	102.74
12	4.45±0.08	102.29	7.12±0.19	112.3	10.8±0.55	118.55
Вар. 8	4.55±0.05	104.59	7.61±0.22	120.03	11.1±0.6	121.84
Вар. 10	4.55±0.14	104.59	7.3±0.25	115.14	10.46±0.3	114.81
Вар. 11	4.95±0.33	113.79	5.98±0.25	94.32	9.15±0.17	100.43
66	5.0±0.11	114.94	5.95±0.25	93.84	10.34±0.42	113.5
Вар. 13	4.1±0.19	94.25	6.03±0.4	95.11	9.39±0.18	103.07
Вар. 16	4.45±0.4	102.29	8.02±0.28	126.49	11.24±0.7	123.38

Опыты показали, что средняя длина главного корня семян тритикале увеличилась на 21.84% под влиянием экзометаболитов вар. 8, а вар. 16 *S. sp.* 66 стимулировал увеличение длины корней на 23.38%–26.49%. Увеличение веса сырых корней отмечали под влиянием метаболитов вариантов *Streptomyces* sp. 12 и 66 (на 4.5% – 26.0%).

В гипокотылях, после обработки семян сои «Зенит» препаратом, увеличилось общее количество протеиногенных аминокислот и особенно доля ароматических аминокислот (в 1.4 раза), в том числе и триптофана.

Обработка семян табака Молдавский 456 средней всхожести экзометаболитами *Streptomyces massasporeus*

CNMN-Ас-06 способствовала повышению качества рассады (на 15.4%), ее массы и длины (на 16.9% и 4.3% соответственно) по отношению к контролю. Количество листьев первого сорта составило 93.3%, а второго сорта – 6.7% при 68.2% и 31.8%, соответственно, в контроле. У семян табака сорта Burley низкой всхожести обработка метаболитами этого штамма повысила всхожесть на 6.1%.

Метаболиты изучаемых стрептомицетов могут быть рекомендованы для предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур для повышения всхожести, формирования корневой системы и качества продукции.

Таблица 2. Увеличение длины корешков семян кукурузы сорта «Дебют» под влиянием метаболитов штаммов *Streptomyces spp.*

№ <i>Streptomyces spp.</i>	Средняя длина корешков		Средняя длина главного корня	
	мм	%	мм	%
H ₂ O (контроль)	9.2±0.1	100	12.7±0.2	100
11	10.2±0.1	110.8	16.9±0.4	133
22	10.6±0.2	115.2	15.8±0.5	124.4
47	9.2±0.1	100	15.3±0.1	120.4
49	10.3±0.3	111.9	15.5±0.1	122
123	11.3±0.3	122.8	18.4±0.1	144.8
154	10.1±0.3	109.7	15.1±0.4	118.8
182	10.8±0.1	117.3	14.5±0.4	114.1

Таблица 3. Зеленая масса проростков сои «Зенит» после обработки комплексным препаратом на основе экзометаболитов *Streptomyces levoris* CNMN-Ас-01 и соли ванадия

Вариант	Зеленая масса проростков	
	г	%
H ₂ O (контроль)	3.2±0.05	100
1.0% ЭМ + V 0.0025 %	2.49±0.19	77.81
1.0% ЭМ + V 0.0005 %	3.39±0.33	105.94
1.0% ЭМ + V 0.0001 %	3.12±0.45	97.5
0.5% ЭМ + V 0.0025 %	3.28±0.14	102.5
0.5% ЭМ + V 0.0005 %	3.99±0.27	124.69
0.5% ЭМ + V 0.0001 %	3.81±0.46	119.06

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 35–36

REGULATION OF PLANT GROWTH BY METABOLITES OF STREPTOMYCETES OF SOIL OF MOLDOVA AND ITS APPLICATION PROSPECTS

S.A. Burtseva¹, S.N. Maslobrod², I.G. Akiri², A.A. Bratuhina¹, M.N. Byrsa¹¹Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM, burtseva.svetlana@gmail.com²Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, maslobrod37@mail.ru

Was studied the effect of streptomycetes on seeds of crops (triticale, corn, soybeans, tobacco). *Streptomyces spp.* 9, 12 and 66 and their natural variants had a positive effect on triticale seeds. Exometabolites of *S. sp.* 9 var. 2 increased the average length of the main root, *S. sp.* 12 var. 11 increased numbers of roots, the average length of the roots by 20.03%. Strains 11, 22, 47, 49 and 182 increased the number of roots, the root length and the main root length of maize seeds. On the basis of *S. levoris* CNMN-Ас-01 and salts of vanadium was proposed bioproduct that increases the growth and wet weight of sprouts seeds of soybean variety «Zenith». Exometabolites of *S. massasporeus* CNMN-Ас-06, in the variety of tobacco increase rate of seed germination. The number of leaves of the test plants has increased by 12.0%, and the total area is 28.7% in comparison with the control plants.

УДК 579.264

АНТАГОНИЗМ БАКТЕРИЙ Р. *BACILLUS* И Р. *STREPTOMYCETES* ПОЧВ МОЛДОВЫ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

С.А. Бурцева¹, В.Э. Шубина², М.Н. Бырса¹, Ю.Н. Березюк¹¹Институт микробиологии и биотехнологии АН Молдовы, Кишинев, Молдова, burtseva.svetlana@gmail.com²Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, vshubina969@gmail.com

В работе рассмотрена перспектива использования штаммов *Bacillus subtilis* и штаммов р. *Streptomyces*, как биологических агентов для защиты растений против фитопатогенных микроорганизмов. Показана антифунгальная активность 5 бактериальных штаммов *Bacillus subtilis* (4 местных штамма, выделенных из ризосферы томатов, и продуцент биопрепарата фитоспорин 26Д) и штаммов р. *Streptomyces*, изолированных из почвы центральной части Молдовы, против фитопатогенов сельскохозяйственных культур. Для определения антифунгальной активности использовали метод агаровых блоков. Тест-культурами служили *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*. Наиболее активными показали себя штаммы *Bacillus subtilis* S2 и S4, а также штаммы р. *Streptomyces* – 9 и 10, полностью подавляющие рост *A. alternata*, *B. cinerea*, *Scl. sclerotiorum*.

Ключевые слова: бациллы, стрептомицеты, фитопатогены, антифунгальная активность.

Рассматривая актуальные проблемы биотехнологии в растениеводстве, многие исследователи считают, что дальнейшее развитие получит такое направление, как применение в биотехнологии природных и синтетических регуляторов роста и микробных препаратов для защиты их от болезней, что позволит решить существенную часть продовольственной программы на фоне ожидаемого быстрого роста народонаселения в развитых странах.

Анализируя данные таблицы по выявлению антифунгального действия, можно заметить, что все бактерии показали положительный результат. Слабее по некоторым фитопатогенам проявили себя бактерии *B. subtilis*-S4 и *B. subtilis*-S22. Меньше всего подавлялся рост *B. cinerea* и *F. oxysporum*. Культура *B. subtilis*-S4 хотя и продемонстрировала меньшее антифунгальное действие по всем патогенам (кроме влияния на *Scl. sclerotiorum* – 31.5 мм), но

оно было стабильным. Культура S2 в своем действии на разные изоляты альтернрии в одном случае превышала активность эталона на 28%, а в другом только на 7%. Против *Rh. solani*, *A. solani* и *F. solani* активность была выше на 13%, 14% и 18% (соответственно). Действие культуры S16 относительно *Rh. solani* превышало эталон на 3%, а *A. alternata* – на 18%.

Как видно по данным, представленным в таблице изучаемые штаммы стрептомицетов обладали способностью проявлять антагонизм по отношению к фитопатогенным грибам в разной степени. Так, например, по отношению к *A. alternata* удалось выявить 1 штамм, способный полностью подавлять его рост (*Streptomyces* sp. 10) и 2 штамма, под действием метаболитов которых у этого фитопатогена отмечали появление зон задержки роста радиусом от 12.5 до 14.0 мм (*Streptomyces* sp. 9 и 66), остальные штаммы стрептомицетов задерживали рост этой тест-культуры в меньшей степени (зоны задержки роста радиусом 8.0–9.5 мм). Изучаемые штаммы стрептомицетов проявили себя по отношению к *A. solani* следующим образом: штамм

Streptomyces sp. 10 не обладал способностью полностью подавлять рост этого тест-гриба, но радиус зоны был большой – 29.0 мм, у остальных штаммов антифунгальная активность была незначительно выше, чем по отношению к *A. alternata*. Среди фитопатогенов – представителей р. *Fusarium* нами были выбраны 2 штамма – *F. oxysporum*, *F. solani*. Активным был и штамм стрептомицетов 9 (радиус зоны – 14.5–17.0 мм). У штамма 185 также была замечена способность активно задерживать рост, но только *F. oxysporum* – зоны до 14.0 мм, тогда как штамм 66 вызывал образование зоны не более 7.5 мм. Т.е. следует отметить, что только у 3-х штаммов стрептомицетов была выявлена способность проявлять антагонизм по отношению к *F. oxysporum*, а к другому представителю фузариев – *F. solani* обнаружены 5 штаммов с антифунгальной активностью разной степени (радиус зоны от 5.0 до 9.5 и даже 14.5 мм), а также выявлены штаммы, обладающие способностью полностью подавлять рост *Scl. sclerotiorum* (штамм 9) и *A. alternata*, *B. cinerea* (штамм 10).

Таблица. Антифунгальная активность бактерий р. *Bacillus* и р. *Streptomyces*

Штамм	Радиус зон задержки роста тест-культур, мм						
	<i>A. alternata</i>	<i>A. solani</i>	<i>B. cinerea</i>	<i>R. solani</i>	<i>S. sclerotiorum</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>
	Штаммы <i>B. subtilis</i>						
26D	19.7±0.8	16.9±2.3	–	17.7±1.3	–	18.7±1.2	–
S2	21.0±0.0	19.3±1.4	19.8±1.8	20.0±0.7	20.7±0.1	22.0±1.0	17.0±1.0
S4	20.3±0.8	17.8±1.9	13.1±1.4	19.9±1.1	31.5±2.3	20.0±1.0	15.1±3.1
S16	17.0±2.0	19.1±0.7	15.4±1.1	18.3±0.3	20.1±0.4	22.0±1.0	13.1±2.0
S22	13.3±0.9	18.4±1.2	–	15.5±1.1	–	18.7±1.2	15.2±0.3
	Штаммы р. <i>Streptomyces</i>						
<i>S. sp. 9</i>	14.0±0.0	15.0±1.9	14.5±0.0	14.5±2.3	П.п.	14.5±0.0	17.0±0.0
<i>S. sp. 10</i>	П.п.	29.9±0.0	П.п.	–	–	7.0±1.1	–
<i>S. sp. 12</i>	12.5±2.3	14.0±1.4	11.0±0.3	8.5±0.0	11.5±2.3	8.5±1.1	–
<i>S. sp. 19</i>	–	–	10.0±0.0	10.0±1.3	10.0±0.0	12.0±0.0	–
<i>S. sp. 44</i>	9.5±1.7	9.0±1.1	10.0±0.0	–	8.5±0.8	–	–
<i>S. sp. 66</i>	12.5±0.9	13.5±0.0	10.0±0.0	–	14.0±1.1	7.5±0.0	15.0±0.3
<i>S. sp. 185</i>	8.5±1.1	9.0±0.0	8.8±1.8	–	–	–	14.0±0.9

Таким образом, полученные данные после проведенных нами исследований по изучению антифунгальной активности выделенных из почвы центральной части Молдовы бактерий р. *Bacillus* и р. *Streptomyces* показывают перспективность использования ряда штаммов в каче-

стве эффективных бактериальных организмов в борьбе с фитопатогенами, и, возможно, как основу биопрепаратов для защиты сельскохозяйственных растений, в частности, овощных.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 36–37

ANTAGONISM OF BACTERIA G. *BACILLUS* AND *STERPTOMYCES* ISOLATED FROM SOIL OF MOLDOVA AGAINST PATHOGENS AGENTS OF CROPS

S.A. Burtseva¹, V.A. Shubina², M.N. Byrsa¹, Yu.N. Bereziuk¹

¹Institute of Microbiology and Biotechnology of ASM, burtseva.svetlana@gmail.com

²Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM

The paper deals with the prospect of using *Bacillus subtilis* strains and strains of genus *Streptomyces*, a biological agent to protect plants against fitopathogenic microorganisms. Shown antifungal activity of five *B. subtilis* bacterial strains (4 local strains isolated from the rhizosphere of tomato and producing biological product phytoalexin 26D) and strains of genus *Streptomyces* (strains isolated from the soil of the Central Part of Moldova) against the spread of plant pathogens of crops *in vitro*. To determine the antifungal activity was used the method of agar blocks. Test cultures were *Alternaria alternata*, *A. solani*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*. Major activity had strains *B. subtilis* S2 and S4, and the strains of genus *Streptomyces* – 9 and 10, completely inhibit the growth of *A. alternata*, *B. cinerea*, *Scl. sclerotiorum*.

УДК 632.4

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОБРАЗЦОВ ПШЕНИЦЫ, ЕЕ РЕДКИХ ВИДОВ, ЭГИЛОПСА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВСЕРОССИЙСКОГО ИНСТИТУТА ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ ИМ. Н. И. ВАВИЛОВА И ОТБОР ИСТОЧНИКОВ С ГРУППОВОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ

Г.В. Волкова¹, О.Ю. Кремнева¹, Ю.В. Шумилов¹, Е.В. Гладкова¹, О.Ф. Ваганова¹,
О.П. Митрофанова², Н.С. Лысенко², Н.Н. Чикида², А.Г. Хакимова², Е.В. Зуев²

¹Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия, galvol@bk.ru

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, o.mitrofanova@mail.ru

Целью настоящей работы явился поиск источников с групповой устойчивостью среди пшеницы и эгилопса к возбудителям наиболее опасных грибных болезней. Пораженность образцов учитывали в период молочно-восковой спелости зерна при максимальном проявлении болезней, анализируя не менее 25 растений, по общепринятым методикам [Бабаянц и др. 1988]. В результате скрининга 861 образца из мировой коллекции ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова» выявлено 405 образцов, устойчивых к двум-пяти болезням. Полученные результаты предложены для перспективной селекции устойчивых к возбудителям грибных болезней сортов пшеницы.

Ключевые слова: пшеница, эгилопс, грибные болезни, источники с групповой устойчивостью.

Бурая, желтая, стеблевая ржавчина, септориоз, желтая пятнистость относятся к наиболее вредоносным и распространенным заболеваниям пшеницы. Для создания новых болезнестойчивых сортов постоянно требуются генетически разнообразные источники устойчивости с учетом внутривидовой дифференциации патогенов. Базой для поиска источников устойчивости служит коллекция мирового разнообразия пшеницы и ее ближайших родичей, сохраняемая в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова» (ВИР).

В условиях искусственных инфекционных фонов, создаваемых в ФГБНУ «Всероссийский НИИ биологической защиты растений», был изучен 861 образец из мировой коллекции ВИР, из них 286 образцов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), 153 образца яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), 340 образцов редких видов пшеницы, 82 образца *Aegilops tauschii* Cos. различного географического происхождения к северокавказским популяциям возбудителей бурой, желтой, стеблевой ржавчины, пиренофороза и септориоза. Выявлено 248 источников с устойчивостью к возбудителю бурой ржавчины, 368 – желтой ржавчины, 133 – стеблевой ржавчины, 246 – пиренофороза и 408 – септориоза. Пораженность образцов оценивали по общепринятым методикам [Бабаянц и др., 1988]. Устойчивыми считали образцы, которые в течение трех лет испытаний поражались возбудителями пятнистостей не более чем на 15.0%, а возбудителями ржавчины – не более чем на 5.0% и имели тип реакции на заражение 0, 0; 1 балл.

Наибольшую ценность представляют источники с групповой устойчивостью, поскольку одновременно можно передавать в создаваемые новые сорта устойчивость сразу к нескольким фитопатогенам. Выявлено 405 образцов, устойчивых к двум-пяти болезням. Такие образцы встречались как среди мягкой пшеницы, так и среди редких видов и эгилопса, но с устойчивостью к трем-пяти фитопатогенам чаще среди диких и примитивных видов пшеницы и эгилопса.

В изученной выборке, относящейся к гексаплоидной группе, выявлено с групповой устойчивостью 67 (23.4% от числа изученных) образцов озимой мягкой пшеницы, из

них 48 – с устойчивостью к двум болезням, 15 – к трем и 4 – к четырем; 16 (10.5%) образцов яровой мягкой пшеницы, из них 12 – с устойчивостью к двум болезням, 3 – к трем и 1 – к четырем; 61 (80.3%) образец *T.spelta*, из них 15 – с устойчивостью к двум болезням, 43 – к трем и 3 – к четырем; 4 (26.7%) образца *T.macha*, устойчивых к двум болезням, и 1 (100%) образец *T. compactum* с устойчивостью к трем болезням.

В группе тетраплоидов максимальное количество образцов с групповой устойчивостью выявлено среди *T. dicoccum* – 90 (67.2%), из них 62 – к двум, 27 – к трем и 1 образец – к четырем болезням. 39 (100%) устойчивых образцов выявлено среди *T.timopheevii* и кроме 12, устойчивых к трем и 10 – к четырем патогенам, важным явилось определение 17 образцов, которые проявили устойчивость к пяти болезням. Среди *T.araraticum* выявлено 27 (100%) образцов с групповой устойчивостью и что особо ценно, среди них 7 образцов были устойчивы ко всем пяти изучаемым болезням. В выборке *T.persicum* найден 1 образец с устойчивостью к двум и 1 – к трем болезням.

Среди образцов редких видов пшеницы, относящихся к диплоидной группе, среди *T.urartu* выявлено 33 (100%) источника устойчивости к двум (5 образцов), трем (18 образцов), четырем (9 образцов) и пяти болезням (1 образец); среди *T.monococcum* – 10 (100%) образцов, которые были устойчивы сразу к четырем патогенам.

Род *Aegilops* является высокоустойчивым ко многим болезням. И в наших исследованиях выявлено 55 образцов (67.1%) с групповой устойчивостью, из них 17 – к двум, 22 – к трем, 14 – к четырем и 2 образца – к пяти болезням.

Проведенный анализ частоты встречаемости устойчивых образцов пшеницы в группах, имеющих различную плоидность и геном, выявил различия. В пределах одной группы встречаются виды пшеницы с различной частотой устойчивых образцов, что может свидетельствовать об отсутствии влияния плоидности на проявление чувствительности или устойчивости растения-хозяина к возбудителям болезней. Устойчивость образцов к фитопатогенам, возможно, связана с их географическим происхождением. Исследуемые образцы пшеницы имели широкое географическое происхождение и группы образцов, происхо-

дящих из разных стран мира, различались по показателю встречаемости устойчивых образцов. Максимальная доля устойчивых образцов среди озимой мягкой пшеницы в изученной выборке приходилась на сортообразцы из Франции (30.9%), яровой мягкой пшеницы – из России (31.3%). Более высокая частота устойчивых образцов у изученных редких видов наблюдалась в группе сортообразцов из стран Закавказья (Армении – 60 образцов (22.5% от числа устойчивых)), Азербайджана – 32 (12.0%), Грузии – 23 (8.6%). Из немецких образцов выявлено 88 источников с групповой устойчивостью (33.0%), из них *T. timopheevii* – 24, *T. spelta* – 58, *T. dicoccum* – 5, *T. urartu* – 1. Высокий процент (8.2%) устойчивых образцов *T. urartu* выделен из материала сирийского происхождения. Максимальное количество источников с групповой устойчивостью среди образцов *Ae. tauschii* отмечено из Азербайджана (24 или 43.6% от числа устойчивых), Ирана (15 или 27.2%), Армении (5 или 9.1%). Что подтверждает мнение П. М. Жуковского [1965] о том, что Закавказье, как переднеазиатский генцентр, является основным генцентром видообразования пшеницы и ее устойчивости, родиной многих ценных видов пшеницы и эгилопса, в том числе и *T. monococtum* и *T. spelta*.

Библиографический список (References)

Бабаянц Л.Т., Мештергази А., Вехтер В. и др. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах – членах СЭВ. Прага. 1988. 321 с.

Особо следует отметить сортообразцы, проявившие устойчивость к пяти изучаемым патогенам. Среди вида *T. timopheevii* – это 16 немецких образцов и один российский образец; среди вида *T. araraticum* – 4 образца из Азербайджана и 3 образца из Армении; среди вида *T. urartu* – образец из Сирии; среди *Ae. tauschii* – 2 образца из Ирана.

В результате анализа устойчивости сортообразцов из коллекции ВНИИР им. Н. И. Вавилова определено, что частота встречаемости образцов с групповой устойчивостью у озимой пшеницы выше, чем у яровых образцов (23.4% и 10.4% соответственно). Из редких видов наибольшая частота образцов с групповой устойчивостью встречается среди *T. timopheevii*, *T. araraticum*, *T. urartu*, *T. monococtum*. У образцов *T. spelta*, *T. dicoccum* и *T. persicum* данный показатель составил 80.2%; 67.7% и 66.6% соответственно. Среди *T. macha* частота источников с групповой устойчивостью составила 26.7%. Доля устойчивых к нескольким патогенам образцов среди *Ae. tauschii* составила 67.0%.

Выделенные источники с групповой устойчивостью представляют большой практический интерес и предложены для перспективной селекции устойчивых к возбудителям грибных болезней сортов пшеницы.

Жуковский П.М. Генетические основы происхождения физиологических рас грибного паразита и поиски устойчивого генотипа растения-хозяина // Генетика. 1965. Т. 6. С. 137–148.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 38–39

IMMUNOLOGICAL ASSESSMENT OF WHEAT SAMPLES, ITS RARE SPECIES, AEGILOPS FROM THE COLLECTION FEDERAL RESEARCH CENTER “VAVILOV ALL-RUSSIAN INSTITUTE OF GENETIC RESOURCES” AND SELECTION OF SOURCES WITH GROUP RESISTANCE

G.V. Volkova¹, O.Yu. Kremneva¹, Yu.V. Shumilov¹, E.V. Gladkova¹, O.F. Vaganova¹, O.P. Mitrofanova², N.S. Lysenko², N.N. Chikida², A.G. Khakimova², E.V. Zuev²

¹All-Russian Institute of Biological Plant Protection, galvol@bk.ru

²N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, o.mitrofanova@mail.ru

The aim of this work is the search for group resistance sources of wheat and Aegilops to the pathogens of the most injurious fungal diseases. The lesion of samples was registered at the stage of the milk-wax ripeness with a maximum manifestation of the disease, as a result of analyzing at least 25 plants by standard techniques [Babayants et al. 1988]. As a result of screening of 861 samples from the world collection of the FSBSI «Federal Research Center Vavilov All-Russian Institute of Genetic Resources» 405 samples resistant to two or five diseases were found. The obtained results were offered for prospective selection of the wheat cultivars resistant to fungal disease pathogens.

УДК 576.526

ВЛИЯНИЕ ВРАЩАЮЩИХСЯ МАГНИТНЫХ ПОЛЕЙ НА СПИН-КОНФОРМАЦИЮ СИГНАЛЬНЫХ МОЛЕКУЛ И НА МИКРОБНО-РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С УЧАСТИЕМ ЭТИХ МОЛЕКУЛ

Н.И. Воробьев¹, Я.В. Пухальский¹, О.В. Свиридова¹, В.Н. Пищик²,
А.А. Белимов¹, С.Ю. Толмачев³

¹Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
Nik.IvanVorobyov@yandex.ru

²Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург, Россия

³Научная школа «Эктор», Москва, Россия

В данной работе представлены результаты экспериментального исследования. В опытах исследовалось воздействие вращающихся магнитных полей на сигналинг в микробно-растительной системе, образованной бактериями *Sphingomonas* sp. K1B и растением гороха *Pisum sativum* L., сорт К-1037. В этой системе бактерии подавляют развитие

корней растений. Было обнаружено, что под воздействием вращающихся магнитных полей изменилась вторичная структура бактериальных сигналов. В результате, передача сигналов от бактерий к растительным рецепторам была заблокирована из-за несовпадения пространственной конформации молекулярных реагентов. Поэтому блокировка магнитными полями передачи сигналов в микробно-растительных системах может понизить уровень бактериальных заболеваний растений. Использование вращающихся магнитных полей может значительно снизить затраты на использование химических средств защиты против фитопатогенов растений.

Ключевые слова: пространственная ориентация магнитных спинов атомов в органических молекулах, управляющий сигнал и пространственная конфигурация сигнальных молекул.

Особая форма управления физиологическими процессами в растениях связана с сигнальными функциями фитогармонов. Фитогармоны бактерий *Sphingomonas* sp. K1B по сигнальной схеме воздействуют на синтез этилена в растениях и приводит к замедлению роста корневой системы [Belimov, 2014]. Передача управляющего сигнала от сигнальных молекул к растительным рецепторам зависит от совпадения вторичных структур (конформаций) реагентов по схеме «ключ-замок». Вместе тем, вторичная структура сигнальных молекул чувствительна к воздействию внешних электромагнитных полей, так как такие поля могут возбуждать атомы, изменять spin-ориентацию атомов и менять молекулярные связи в молекулах. Поэтому внешние вращающиеся магнитные поля можно использовать как внешний физический фактор, изменяющий конформацию сигнальных молекул и блокирующий передачу сигналов в растительные рецепторы [Воробьев, 2015].

Цель исследования – экспериментальное обнаружение эффекта блокировки передачи управляющей информации от сигнальных молекул бактерий *Sphingomonas* sp. K1B к рецепторам растений гороха *Pisum sativum* L., сорт К-1037 с помощью вращающихся магнитных полей специальной пространственной конфигурации.

Растения гороха выращивались на гидропонике. Химический состав стерилизованного питательного раствора (мл/л): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$ (100mM) – 0.6; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ (600mM) – 0.6; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (400mM) – 0.6; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ (100mM) – 0.6; KCl (400mM) – 0.6; KNO_3 (1M) – 0.6; $\text{FeC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \times 2.5\text{H}_2\text{O}$ (2mM) – 6.0; микроэлементы. В первом варианте опыта растения выращивались без воздействия биологического и физического факторов. Во втором варианте опыта в питательный раствор были интродуцированы бактерии. В третьем варианте опыта растения гороха вместе с сосудами помещались (на одну минуту в сутки) во вращающееся магнитное поле электромагнитного гене-

ратора [Тарасенко, 2004]. В четвертом варианте опыта на растения одновременно действуют бактерии и вращающееся магнитное поле.

По истечении двух недель были измерены массы корней растений, развившие нормальные полноценные побеги (см. табл., рис.).

Таблица. Массы корней растений гороха в конце опыта (мг)

№ варианта опыта	Экземпляры нормально развитых растений гороха									Среднее	Станд. ошибка*
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
1. без FB и FM	70	70	130	140	140	140	150	150	–	124	4
2. FB	30	40	40	40	40	50	60	80	–	48	4
3. FM	120	130	140	150	150	150	150	200	–	149	4
4. FB+FM	80	100	110	130	130	140	140	150	180	129	3

*Стандартная ошибка средней массы корней растений гороха вычислены с помощью программы DianaS.xlsm [Воробьев, 2014]

Сходство масс корней гороха в вариантах №1 и №4 и существенное различие в массах корней в вариантах №2 и №4 указывают на то, что вращающееся магнитное поле способно нейтрализовать ингибирующее действие бактерий на развитие корней. Возможно, под действием магнитного поля происходит изменение вторичной структуры сигнальных молекул, генерируемых бактериями, и вследствие этого перестают совпадать пространственные структуры сигнальных молекул и растительных рецепторов. По этой причине передача управляющих сигналов в растения не происходит.

Блокировка магнитными полями сигнальных каналов в микробно-растительных системах может быть использована в агротехнологиях выращивания сельскохозяйственных культур различного генезиса с целью снижения агрессивности почвенных фитопатогенов и снижения уровня бактериальных заболеваний растений.

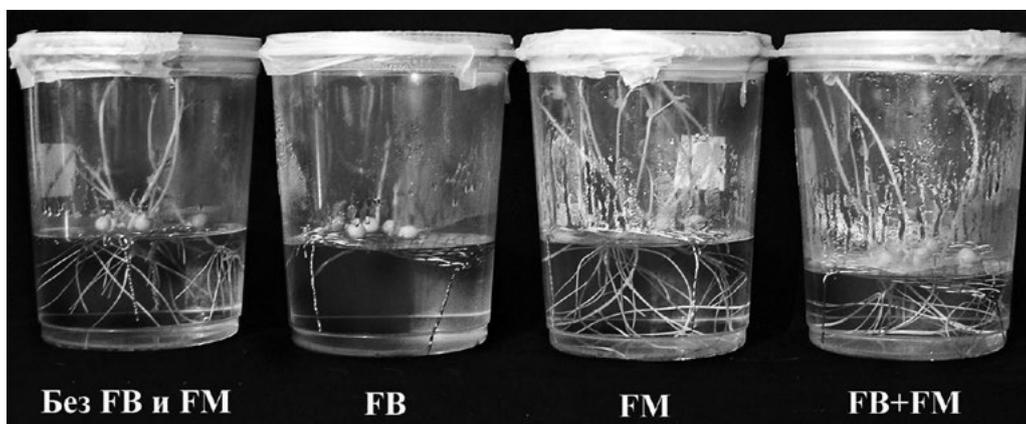


Рисунок. Развитие корней и побегов растений гороха в 4-х вариантах опыта. Без FB и FM – контрольный вариант опыта, в котором растения развивались без воздействия биологического (FB) и физического (FM) факторов. FB – в питательном растворе присутствуют бактерии *Sphingomonas* sp. K1B. FM – на растение воздействует только вращающееся магнитное поле. FB+FM – на растения действуют одновременно биологический и физический факторы

Библиографический список (References)

- Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Dumova V.A., Shaposhnikov A.I., Ladatko A.G., Davies W.J. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth // *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, V.74, p. 84–91.
- Воробьев Н.И., Пухальский Я.В., Свиридова О.В., Пищик В.Н., Белимов А.А., Толмачев С.Ю. Блокирование слабыми торсионными магнитными полями канала передачи сигналов в биосистеме растений гороха и бактерий *Sphingomonas* sp. K1B // Тр. VII международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». 07–11.09.2015. СПб.: Изд-во Политехн. ун-та. 2015. Т.7. С. 256. ISBN 5-86456-007-3
- Воробьев Н.И., Проворов Н.А., Пищик В.Н., Свиридова О.В. Программа двухфакторного дисперсионного анализа биологических данных // Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ N 2014661477 от 30.10.2014. Интернет ресурс: <http://www1.fips.ru/wps/portal/Registers/>.
- Тарасенко В.Я., Толмачев С.Ю. 2004. Устройство для обработки воды или водных растворов «Акватор» // Патент на изобретение РФ N 2297392 от 28.12.2004. Интернет ресурс: <http://bd.patent.su/2297000-2297999/pat/servl/servlete5dd-2.html>.
- Plant Protection News*, 2016, 3(89), p. 39–41

IMPACT OF THE ROTATING MAGNETIC FIELDS ON THE SPIN-CONFORMATION OF SIGNALING MOLECULES AND ON THE PLANT-MICROBIAL INTERACTIONS WITH INVOLVING THESE MOLECULES

N.I. Vorobyov¹, Y.V. Pukhalsky¹, O.V. Sviridova¹, V.N. Pishchik², A.A. Belimov¹, S.Y. Tolmachev³

¹All-Russia Institute for Agricultural Microbiology, Nik.IvanVorobyov@yandex.ru

²Agrophysical Research Institute

³Scientific School “Ecotor”

This paper presents the results of an experimental study. The experiments investigated the effect of the rotating magnetic fields on the signaling in plant-microbe system formed by the bacteria *Sphingomonas* sp. K1B and plant pea *Pisum sativum* L. K-1037. In this system bacteria inhibit the development of the plant's roots. It has been found that the secondary structure of the bacterial signal has changed under the influence of the rotating magnetic field. As a result, the transmission of signals from bacteria to plant receptors has been blocked due to different spatial conformation of molecular reagents. Therefore lock by the magnetic signaling fields in plant-microbe systems can reduce the level of bacterial plant diseases. Using of the rotating magnetic fields can significantly reduce the cost of the protection chemicals against plant's pathogens.

УДК 632.939

УСТОЙЧИВОСТЬ К ИМИДАКЛОПРИДУ У ТЛЕЙ *APHIS GOSSYPPII*, АССОЦИИРОВАННЫХ С РАЗНЫМИ КОРМОВЫМИ РАСТЕНИЯМИ

М.М. Воробьева, Н.В. Воронова

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, masch.89@mail.ru

В статье представлены результаты исследований устойчивости тли *Aphis gossypii* Glover, 1877 к имидоклоприду. Обнаружено, что тли, питавшиеся на *Raphanus sativus* были устойчивы к имидоклоприду в сравнении с линиями тлей к менее токсичных кормовых растений.

Ключевые слова: инсектицидная устойчивость, тли, *Aphis gossypii*, имидаклоприд.

В настоящее время на территории Республики Беларусь зарегистрировано не менее 6000 видов насекомых-фитофагов, многие из которых представляют угрозу для сельскохозяйственных культур. В последние годы активно осуществляются мероприятия, направленные на защиту и сохранение ценных культур, среди которых наиболее эффективными являются применение инсектицидов с различными действующими веществами [Оберемок, Зайцев, 2014; Know at al., 2014]. В литературе имеются сведения о том, что в популяциях насекомых-фитофагов, в частности тлей, в результате инсектицидного воздействия, формируются устойчивые формы, способные выживать под действием инсектицидов и, в течение некоторого времени, вытеснять неустойчивые [Nannan, 2014]. На сегодняшний день в мире недостаточно данных, позволяющих понять, какие молекулярные механизмы способствуют формированию резистентности у тлей к действующим веществам инсектицидов, однако существует предположение, что в

основе устойчивости насекомых к инсектицидам лежат те же механизмы, что способствуют формированию устойчивости к вторичным метаболитам растений. В рамках настоящего исследования мы провели эксперименты, направленные на изучение уровня устойчивости генетически изолированных линий тлей к имидаклоприду в процессе адаптации к конкретному кормовому растению с разным содержанием токсичных вторичных метаболитов.

Для оценки устойчивости к инсектицидам использовали лабораторные клоны тлей *Aphis gossypii* Glover, 1877 с трех овощных культур, а именно редьки черной (*Raphanus sativus* L., 1753), перца овощного (*Capsicum annuum* L., 1753) и моркови посевной (*Daucus carotasub sp. sativus* (Hoffm.) Arcang, 1882) (рис. 1).

Тлей аккуратно с помощью кисточки снимали с кормового растения и помещали в пластиковый контейнер размером 15×20 см, предварительно обработав его раствором инсектицида. Учет численности выживших и погибших



Рисунок 1. Лабораторные культуры, пораженные тлей *Aphis gossypii*: редька черная (А), перец овощной (Б) и морковь посевная (В)

насекомых проводили через 1 ч., 3 ч., 6 ч. и 20 ч. В эксперименте использовали инсектицид «Биотлин» с действующим веществом имидаклоприд в разведении, рекомендуемом производителем.

В результате работы было проанализировано 3422 особи *A. gossypii* (1889 крылатых и 1533 бескрылых), коллектированные с разных кормовых растений. Установлено, что выживаемость тлей напрямую зависела от нескольких условий, а именно времени контакта с инсектицидом, вида растения, с которого были собраны образцы и индивидуальных особенностей морф. При тестировании крылатых самок оказалось, что через сутки выживаемость тлей с редьки черной составила 62.5%. В тоже время выживаемость с перца овощного составила 28.9%, а с моркови посевной – 22.1%. Во всех тестируемых линиях максимальная смертность отличалась в течение первых 3 ч. эксперимента, в дальнейшем смертность снижалась.

Несколько иная ситуация наблюдалась при тестировании бескрылых самок тлей с редьки черной. А именно, через 20 ч. эксперимента выживаемость составила 56.4%; у тлей с перца овощного – 43.5%, в то время как у тлей

с моркови посевной выживаемость в среднем составила 34.9%. При этом доля выживших особей равномерно сокращалась в течение всего времени эксперимента.

Данные о выживаемости тлей *A. gossypii* представлены как средняя доля выживших особей из числа всех тестируемых на рис. 2.

Таким образом, на основе полученных данных можно утверждать, что устойчивость разных линий тлей *A. gossypii* (крылатые или бескрылые самки) к имидаклоприду находится в зависимости от кормового растения. Тли с редьки черной в сравнении с линиями с перца овощного и моркови посевной демонстрировали максимальную устойчивость к имидаклоприду, что, по нашему мнению, может быть связано с высоким содержанием токсичных вторичных метаболитов в редьке черной, что, однако, требует дальнейшего изучения. Отдельного внимания требует факт преимущественного выживания крылатых особей под действием имидаклоприда, поскольку, как известно, именно крылатые морфы обеспечивают расселение и перенос фитопатогенных вирусов у тлей.

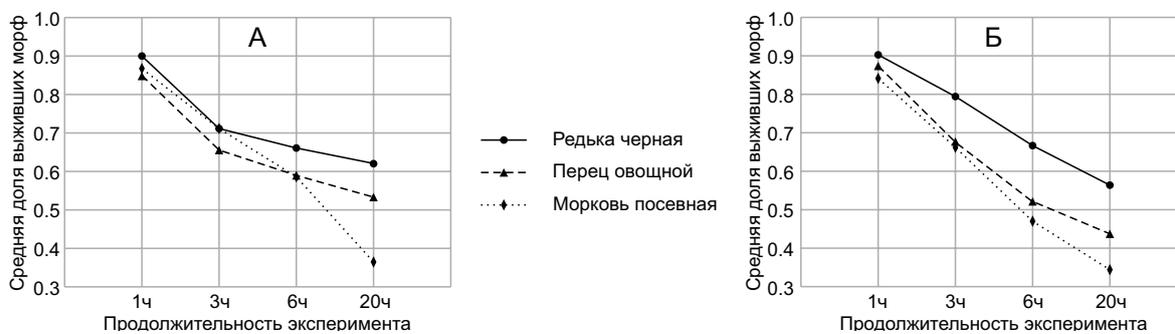


Рисунок 2. Временная динамика изменения доли выживших крылатых (А) и бескрылых (Б) особей *Aphis gossypii* при воздействии имидаклоприда

Библиографический список (References)

- Оберемок В.В. Современные инсектициды: их преимущества, недостатки и предпосылки к созданию ДНК-инсектицидов // Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского, 2014. Т. 27 (66). с. 112–126.
- Know D.H. Identification and characterization of an esterase involved in malathion resistance in the head louse *Pediculus humanus capitis* // Pesticide Biochemistry and Physiology, 2014. Vol. 25 (7). p. 13–18.
- Nannan L. Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions // Annu. Rev. Entomol, 2014. Vol.60. p. 537–559.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 41–42

THE RESISTANCE TO IMIDACLOPRIDIN OF APHIDS *APHIS GOSSYPHII* ASSOCIATED WITH DIFFERENT HOST-PLANTS

M.M. Varabyova, N.V. Voronova
Belarusian State University, masch.89@mail.ru

The article presents the results of studying the insecticide resistance to the imidaclopridin of aphids (*Aphis gossypii* Glover, 1877). It is found that aphids which fed on long *Raphanus sativus* (containing a lot of toxic metabolites) were resistant to imidacloprid comparing to the aphid lines associated with less toxic host-plants. The 62.5 per cent of survivors were winged morphs and about 56.4 per cent were wingless.

УДК 633.11.111

СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ МОРКОВИ СТОЛОВОЙ (*DAUCUS CAROTA* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ**Т.С. Вюртц, Н.А. Шмыкова, М.И. Федорова, Т.В. Заячковская, Е.А. Домблидес**Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур РАН, Московская область, Россия,
tajtza@yandex.ru, Edomblides@mail.ru

Использование биотехнологических подходов позволяет сократить временные затраты на получение гомозиготных генетически стабильных линий. Из трех образцов моркови столовой (*Daucus carota* L.) были получены удвоенные гаплоидные растения через культуру неопыленных семян *in vitro* (61 растение) и через культуру микроспор (5 растений). Наиболее успешной модификацией методик оказалось добавление антибиотика цефотаксима 200 мг/л в культуральную среду. Все адаптированные растения были диплоидными ($2n=18$).

Ключевые слова: *Daucus carota* L., ДН-технологии, культура неопыленных семян *in vitro*, культура микроспор.

В условиях постоянно меняющихся запросов рынка и появляющихся новых болезней и вредителей сельскохозяйственных культур существует необходимость ускорения селекционного процесса. В настоящее время для ускорения селекции широко используются технологии получения удвоенных гаплоидов (ДН-технологии) с использованием культуры пыльников, микроспор и неопыленных семян *in vitro*. Морковь столовая (*Daucus carota* L.) относится к перекрестноопыляемым растениям с двулетним циклом развития, в связи с этим ускоренное получение гомозиготных генетически стабильных линий является актуальной задачей для селекции этой экономически важной овощной культуры. На данный момент существует небольшое количество сообщений об успешном получении удвоенных гаплоидов моркови через культуру пыльников [Тюкавин и др., 1999; Górecka K. et al., 2005; Domblides A., 2014; Шмыкова Н.А., 2006; Чистова А.В., 2015], микроспор [Matsubara et al., 1995; Górecka K., et al., 2010, Li et al., 2012] и неопыленных семян [Тюкавин Г.Б., Шмыкова Н.А., 1996; Домблидес А.С., 2001; Тюкавин Г.Б., 2007; Kielkowska A, Adamus A., 2010; Котлярова О.В., 2010]. Критическими факторами для данных технологий являются: генотип донорного растения, технологические сложности выделения пыльников и семян (морковь имеет довольно мелкие генеративные органы), стадия развития мужского и женского гаметофита, длительный период культивации до инициирования эмбриогенеза и каллусогенеза, низкая эффективность получения эмбриоидов, большие потери растений-регенерантов на стадии адаптации к нестерильным условиям, различие в плоидности получаемых растений. Целью работы было получение гомозиготных растений моркови столовой *D. carota* L. с использованием культуры микроспор и неопыленных семян *in vitro*.

Исследование проводили на образцах, относящихся к разным сортотипам (Марлинка (7 растений), Нантская-4 (3 растения), Император (19 растений)). Донорные растения выращивались как в поликарбонатной теплице, так и в климатической камере (при 21–24 °С и 16ч фотопериоде) из корнеплодов, прошедших яровизацию. При отборе бутонов проводили цитологическое изучение стадий развития микроспор и пыльцы, используя методику дифференциального окрашивания [Alexander, 1969] и микроскоп Axio Imager A2 (Zeiss, Германия). Оптимальную стадию развития женского гаметофита определяли по размеру завязи [Домблидес А.С., 2001]. Только при культивировании на стадии зрелого зародышевого мешка происходило образование эмбрионных структур.

Культура микроспор: выделение и культивирование ми-

кроспор проводили по оптимизированной методике, разработанной для рапса [Lichter, 1982] на среде $\frac{1}{2}$ NLN, pH 5.8 с различной концентрацией сахарозы (13%, 15%, 25%) и добавлением цефотаксима 200 мг/л.

Культивирование неопыленных семян *in vitro* проводили, модифицируя методику, разработанную ранее для моркови [Тюкавин Г.Б., Шмыкова Н.А., 1996]. Модификация заключалась в использовании сочетания регуляторов роста (0.2 мг/л 2,4Д и 0.2 мг/л кинетин) и добавлении антибиотика – цефотаксима 200 мг/л в среду, в качестве дополнительного стерилизующего компонента, что помогло снизить потери от развития инфекций.

По сравнению с культурой микроспор использование культуры неопыленных семян *in vitro* оказалось более эффективным для получения ДН-растений. Для растений с цитоплазматической мужской стерильностью эта методика оказалась единственной уникальной возможностью получения удвоенных гаплоидных растений. При культивировании семян через три недели наблюдалось увеличение размеров и их побурение. Число культивируемых семян с индивидуального растения составляло от 7 у Император до 60 у № 258 (с/п Марлинка). Образование эмбрионного каллуса наблюдалось со стороны микропиллярного конца через 5–7 недель от начала культивирования. Исследуемые сортообразцы проявили различную отзывчивость к индукции гиногенеза. Процент отозвавшихся семян варьировал и зависел от генотипа индивидуального растения в сорте Император (от 0 до 50%). В сортах Марлинка и Нантская-4 все растения оказались отзывчивыми и процент семян с гиногенными структурами составлял 28–53%. Всего было получено 62 растения-регенеранта.

Индукцию эмбриогенеза в культуре микроспор до стадии 2–4 клеток, удалось добиться для всех трех сортов. Однако взрослые растения были получены только из сорта Нантская-4 в количестве 5 шт, которые успешно прошли яровизацию и были высажены для последующего самоопыления.

Критическим этапом является адаптация растений-регенерантов моркови, полученных в условиях *in vitro* к условиям выращивания их *in vivo*. При переносе растений регенерантов в условия с влажностью, которая меньше чем в культуральном сосуде, растения быстро увядали и поражались грибными заболеваниями рода *Fusarium* spp.. Минимизировать эти потери оказалось возможным, используя профилактические обработки препаратом КВАДРИС 250 SC, К.С., сразу после пересадки, через 2-е суток и затем по мере необходимости.

Проведенный цитологический анализ растений-реге-

нерантов, полученных как через культуру микроспор, так и через культуру неопыленных семязпочек *in vitro* показал, что все адаптированные растения были диплоидными ($2n=18$).

Анализируя отечественный и зарубежный опыт, про-

слеживается перспективность разработок ДН-технологий получения удвоенных гаплоидов у растений моркови столовой через культуру неопыленных семязпочек *in vitro* и культуру микроспор, что требует дальнейшей модификации данных методик.

Библиографический список (References)

- Домблидес, А.С. Разработка лабораторной технологии получения гиногенных растений моркови *in vitro*: автореферат дис. к. с.-х.н.М., 2001. 23 с.
- Котлярова, О.В. Усовершенствование элементов технологии получения регенерантов для создания удвоенных гаплоидов моркови (*Daucus carota*): дис. ... к. с.-х. н.: 06.01.05. – М., 2010. 165 с.
- Тюкавин, Г.Б. Биотехнологические основы селекционной технологии моркови. М., 2007. 539 с.
- Тюкавин Г.Б., Шмыкова Н.А., Монахова М.А. Цитология эмбриогенеза в культуре пыльников моркови // Физиология растений. 1999. Т. 46. N 6. С. 876–883.
- Тюкавин Г.Б., Шмыкова Н.А. Культура неопыленных завязей и семязпочек моркови – путь ускоренного получения стерильных линий для гетерозисной селекции // Селекция овощных и баштанских культур на гетерозис: Тез. Допов. Міжнар. наук. конф. Харків. 1996. С. 82–83.
- Чистова А.В. Совершенствование *in vitro* технологии получения удвоенных гаплоидов для селекции F1 гибридов моркови на основе самонесовместимости: автореферат дис. к. с.-х.н., М., 2015. 18 с.
- Шмыкова, Н.А. Разработка системы биотехнологических методов, направленных на ускорение селекционного процесса овощных культур: дис. ... д-ра с.-х. Наук: 06.01.05, 03.00.23. – М., 2006. 365 с.
- Domblides, A. Anther and ovule *in vitro* culture in carrot (*Daucus carota* L.) // Carrot and other Apiaceae, International symposium, 17-19 september 2014, Angers, France. P.28
- Górecka K, Krzyżanowska D, Górecki R (2005) The influence of several factors on the efficiency of androgenesis in carrot. J of Appl Genet 46(3):265–269.
- Górecka, K., U. Kowalska., D. Krzyżanowska. W. Kiszczak. Obtaining carrot (*Daucus carota* L.) plants in isolated microspore cultures // J Appl Genet, 2010. V. 51. P. 141–147.
- Kiełkowska A, Adamus A. *In vitro* culture of unfertilized ovules in carrot (*Daucus carota* L.) // Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2010/ N 102. P. 309–319.
- Li J.-R., Zhuang F.Y., Ou Ch.-G., Hu H., Zhao Z.-W., Mao J.-H. Microspore embryogenesis and production of haploid and doubled haploid plants in carrot (*Daucus carota* L.). // Plant Cell Tiss. Organ Cult. 2013. V. 112 P. 275–287.
- Matsubara S., Dohya N, Murakami K, Nishio T, Dore C Callus formation and regeneration of adventitious embryos from carrot, fennel and mitsuba microspores by anther and isolated microspore cultures // Acta Horti, 1995.V. 392. P. 129–137

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 43–44

DEVELOPMENT OF DOUBLED HAPLOID LINES (DHS) IN CARROT (*DAUCUS CAROTA* L.) WITH THE USE OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS

T.S. Vjurts, N.A. Shmykova, M.I. Fedorova, T.V. Zayachkovskaya, E.A. Domblides

All-Russian Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production, tajtzh@mail.ru, Edomblides@mail.ru

Using biotechnological approaches enables to reduce time-consuming work to develop homozygous and genetically stable breeding lines. Doubled haploid plants through culture of unpollinated ovules (61 plants) and isolated microspores (5 plants) were produced in three accessions of carrot (*Daucus carota* L.). The addition of cefotaxime antibiotic 200 mg/L in cultural medium gave successful results with protocols used. All adapted plants were diploids ($2n=18$).

УДК 579.26

БИОЛОГИЯ ВЗАИМОТНОШЕНИЙ ГРИБОВ РОДА *FUSARIUM* И НАСЕКОМЫХ

Т.Ю. Гагкаева

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, t.gagkaeva@mail.ru

Насекомые и грибы рода *Fusarium* сосуществуют во многих биотопах. Кoeволюция этих групп организмов привела к возникновению различных форм взаимоотношений между ними. Целью обзора являлось обобщение результатов исследований, демонстрирующих разнообразные взаимоотношения между грибами рода *Fusarium* и насекомыми.

Ключевые слова: грибы рода *Fusarium*, насекомые, взаимоотношения.

Насекомые и грибы представляют две наиболее многочисленные и разнообразные группы эукариот, которые сосуществуют во многих биотопах и вступают в разнообразные взаимоотношения, охватывающие различные трофические уровни [Гагкаева и др., 2013].

Среди низших грибов представители рода *Fusarium* занимают особое место, характеризуясь высокой метаболической активностью и адаптационной пластичностью, что позволило им освоить различные экологические ниши. Присутствие грибов рода *Fusarium* на насекомых извест-

но давно, однако, только в последнее время использование молекулярно-генетических методов позволило объективно оценить их видовое разнообразие [O'Donnell et al., 2012].

Взаимодействия между грибами рода *Fusarium* и насекомыми в общем виде могут быть охарактеризованы как антагонизм и симбиоз. В свою очередь, антагонистические взаимоотношения могут быть разделены на две категории, в зависимости от их последствий для жизни насекомого, т.е. летальные и нелетальные.

Многие фузариевые грибы могут вызывать гибель насекомых и/или колонизировать погибшие особи. Однако не во всех описанных случаях удается достоверно отделить безусловно энтомопатогенные виды грибов, приводящие к гибели насекомых, от сапротрофных.

Имеются целый ряд примеров, указывающих, что вторичные метаболиты грибов играют в жизнедеятельности насекомых важную роль. Грибы рода *Fusarium* являются продуцентами вторичных метаболитов, высокотоксичных для теплокровных организмов. В ряде случаев присутствие этих соединений оказывает похожее действие и на насекомых, что можно рассматривать в качестве еще одного проявления антагонистических отношений между ними и грибами при использовании одного пищевого субстрата [Dowd, 2003]. Летучие органические соединения могут служить сигнальными молекулами и насекомые могут воспринимать их как аттрактивные, репеллентные, детергентные или нейтральные [Boucias et al., 2012].

Симбиотические отношения между видами рода *Fusarium* и насекомыми отличаются большим разнообразием и включают как взаимовыгодное сосуществование (мутуализм), так и такие формы, которые можно было бы обозначить как комменсализм.

Классическим примером симбиотических отношений между грибами и насекомыми является участие последних в распространении спор грибов (энтомохория). Для представителей рода *Fusarium* характерно формирование двух типов спор бесполого размножения: макро- и микроконидий. Быстрое и избыточно большое количество образующихся конидий (г-стратегия) рассчитано на их низкую вы-

живаемость в окружающей среде. Захват и перенос спор гриба насекомым возможен как при случайном соприкосновении его тела со спороносящими структурами гриба, так и при поедании грибного мицелия вместе с пищей и выделении неподдающихся перевариванию спор вместе с фекалиями. Хорошо известен факт переноса насекомыми-опылителями спор грибов вместе с пыльцой растений [Doğan, Benlioğlu, 2011; Darvas et al., 2011]. Повреждения растений насекомыми способствуют проникновению грибов в ткань и развитию заболевания.

Ярким примером мутуализма являются отношения грибов *Fusarium* с жуками-древоточцами подсемейства Scolytinae (Curculionidae), которые являются переносчиками их спор. Известно, что грибы умеют синтезировать незаменимые стеринны, входящие в состав их клеточных мембран и служащие предшественниками стероидных гормонов, жизненно необходимых для нормального развития насекомых [Инге-Вечтомов, 1997].

Очевидным результатом такого взаимовыгодного партнерства на уровне видов является расширение их ареалов (или поддержание их границ в пределах оптимума), увеличение плотности популяций и повышение жизнеспособности.

Таким образом, коэволюция грибов рода *Fusarium* и насекомых во многих случаях привела к формированию разнообразных форм взаимоотношений, которые в конечном результате обеспечивают сосуществование этих организмов в устойчивых, саморегулирующихся экосистемах.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 12-04-00927.

Библиографический список (References)

- Гагкаяева Т.Ю., Шамшев И.В., Гаврилова О.П., Селицкая О.Г. Биология взаимоотношений грибов рода *Fusarium* и насекомых // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 3. С. 13–23.
- Инге-Вечтомов С.Г. Метаболизм стериннов и защита растений. Соросовский образовательный журнал, 1997, 11: 16–21.
- O'Donnell K., Humber R.A., Geiser D.M., Kang S., Park B., et al. Phylogenetic diversity of insecticolous fusaria inferred from multilocus DNA sequence data and their molecular identification via FUSARIUM-ID and *Fusarium* MLST. Mycologia, 2012, 104, 2: 427–445.
- Dowd P.F. Insect management to facilitate preharvest mycotoxin management. Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 44–45
- Aflatoxin and Food Safety – Part 1. Journal of Toxicology Toxins Reviews, 2003, 22(2, 3): 327–350.
- Boucias D.G., Lietze V.-U., Teal P. Chemical signals that mediate insect-fungal interactions. In book: Biocommunication of fungi, Springer Science, 2012: 305–336.
- Doğan Ö., Benlioğlu S. Determination of disease incidence of fig endosepsis in mamme fruits of caprifigs. Bitki Koruma Bülteni, 2011, 51(3): 239–253.
- Darvas B., Bánáti H., Takács E., Lauber É., Szécsi Á., Székács A. Relationships of *Helicoverpa armigera*, *Ostrinia nubilalis* and *Fusarium verticillioides* on MON 810 Maize. Insects, 2011, 2(1): 1–11.

BIOLOGICAL RELATIONSHIPS BETWEEN *FUSARIUM* FUNGI AND INSECTS

T. Yu. Gagkaeva

All-Russian Institute of Plant Protection, t.gagkaeva@mail.ru

Insects and *Fusarium* fungi coexist in different biotopes. The co-evolution of these groups of organisms has resulted in the emergence of various forms of interactions between them. Antagonistic interactions have unilateral action, which can lead to lethal and non-lethal effects to insects. In both cases, this form of interaction involves volatile (e.g., repellent) and solids (e.g., mycotoxins) secondary metabolites of fungi. Symbiotic interactions between *Fusarium* fungi and insects are very diverse and include both mutually beneficial co-existence (mutualism) and forms that could be described as commensalism. Obviously, the various forms of relationships between *Fusarium* fungi and insects are an important evolutionary factor.

УДК 632.938.1

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИНФИЦИРОВАННОСТИ ГРИБАМИ *FUSARIUM* ЗЕРНА ДИКИХ ВИДОВ РОДА *AVENA* L. С ПОМОЩЬЮ КОЛИЧЕСТВЕННОЙ ПЦР

Т.Ю. Гагкаева¹, О.П. Гаврилова¹, Е.В. Блинова², И.Г. Лоскутов^{2,3}

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, t.gagkaeva@mail.ru;

²Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

³Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Впервые в мире были оценены по устойчивости к фузариозу зерна 57 генотипов 17 диких видов рода *Avena* различной пloidности. Методом количественной ПЦР выявили, что, в целом, содержание ДНК грибов *Fusarium* в зерне генотипов диплоидных и гексаплоидных видов овса было в 3–4 раза ниже, чем в зерне тетраплоидных, среди которых наиболее инфицированными являлись виды с геномом С – *A. insularis*, *A. magna* и *A. murphyi*.

Ключевые слова: овес, виды, фузариоз, ДНК, количественная ПЦР.

Род *Avena* кроме культурных видов, наиболее важным из которых является гексаплоидный овес посевной *A. sativa* L., включает дикие виды, характеризующиеся значительным генетическим разнообразием и широким географическим происхождением.

Генотипы культурных видов *Avena* ранее уже были оценены по устойчивости к заражению грибами *Fusarium* и накоплению микотоксинов, и установлено, что пшеница (*A. strigosa* Schreb.) и посевной (*A. sativa*) овес в меньшей степени подвержены заражению фузариозом, чем византийский (*A. byzantina* C. Koch) и абиссинский (*A. abyssinica* Hochst.) [Bjørnstad, Skinnes, 2008; Tekauz et al., 2008; Gagkaeva et al., 2013]. Число научных публикаций по оценке устойчивости генетического разнообразия диких овсов к фузариозу очень ограничено, однако необходимость проведения таких исследований чрезвычайно велика.

В 2015 году для исследования устойчивости к зараженности грибами рода *Fusarium* Link из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова были выбраны 57 генотипов диких видов, из которых 16% относились к диплоидам, 32% к

тетраплоидам и 52% к гексаплоидам (*A. atlantica* Baum et Fedak, *A. canariensis* Baum, *A. clauda* Dur., *A. damascena* Rajh. et Baum, *A. hirtula* Lag., *A. longiglumis* Dur., *A. wiestii* Steud. – диплоиды; *A. agadiriana* Baum et Fed., *A. barbata* Pott., *A. vaviloviana* Mordv., *A. insularis* Ladiz., *A. magna* Murph. et Terr., *A. murphyi* Ladiz. – тетраплоиды; *A. fatua* L., *A. ludoviciana* Dur., *A. occidentalis* Dur., *A. sterilis* L. – гексаплоиды). Оценку проводили на искусственном инфекционном фоне гриба *F. culmorum* (Wm. G. Sm.) Sacc. в условиях Пушкинских лабораторий ВИР. После сбора урожая зерновки овса размалывали до получения муки. Выделение ДНК проводили из 200 мг навески муки с помощью адаптированного СТАВ-метода [European Commission, 2005]. Несмотря на то, что растения инокулировали *F. culmorum*, в условиях экспериментального поля кроме этого вида на зерне встречались и другие фузариевые грибы: *F. poae*, *F. sporotrichioides*, *F. avenaceum*. В связи с этим, оценку инфицированности зерна проводили методом количественной ПЦР, выявляя содержание ДНК всех видов грибов *Fusarium*, способных продуцировать трихотененовые микотоксины [Gagkaeva et al., 2013].

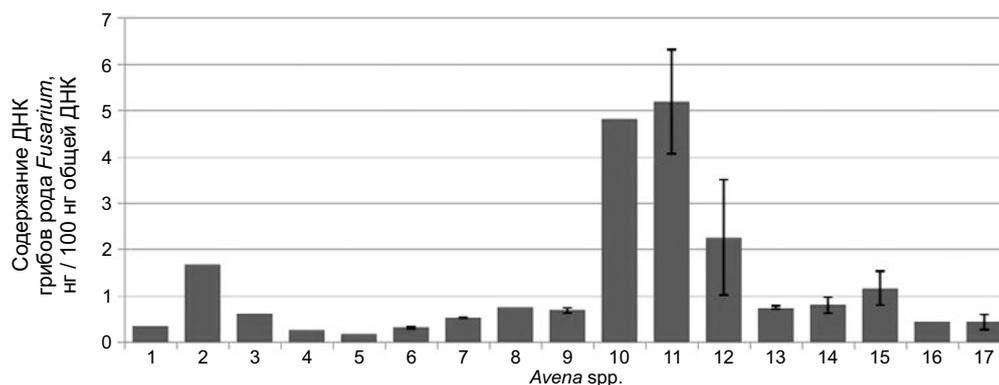


Рисунок. Содержание ДНК грибов *Fusarium* в зерне диких видов *Avena*, инокулированных грибом *F. culmorum*:

1. *A. atlantica* (n=7), 2. *A. canariensis* (n=7), 3. *A. clauda* (n=7), 4. *A. damascena* (n=7), 5. *A. hirtula* (n=7), 6. *A. longiglumis* (n=7), 7. *A. wiestii* (n=7), 8. *A. agadiriana* (n=14), 9. *A. barbata* (n=14), 10. *A. insularis* (n=14), 11. *A. magna* (n=14), 12. *A. murphyi* (n=14), 13. *A. vaviloviana* (n=14), 14. *A. fatua* (n=21), 15. *A. ludoviciana* (n=21), 16. *A. occidentalis* (n=21), 17. *A. sterilis* (n=21)

Количество ДНК трихотененопродуцирующих видов грибов *Fusarium* в исследованных образцах варьировало от 0.19 до 5.19 нг/100 нг общей ДНК. Выявлено, что тетраплоидные виды содержали в среднем в 3.4–4.3 раза больше ДНК фузариевых грибов (2.41±0.77 нг/100 нг общей ДНК), чем диплоидные (0.56±0.18 нг/100 нг общей ДНК) и гексаплоидные виды (0.7±0.15 нг/100 нг общей ДНК) (рис.). Наиболее инфицированные образцы овса, относи-

лись к тетраплоидным видам с геномом С – *A. insularis*, *A. magna* и *A. murphyi*. Приведенные результаты являются первым в мире опытом оценки генетического разнообразия диких видов рода *Avena* с помощью ДНК-тестирования и требуют дальнейших исследований.

Исследование выполнено при поддержке проекта РНФ № 14-16-00072.

Библиографический список (References)

- Björnstad Å., Skinnes H. Resistance to *Fusarium* infection in oats (*Avena sativa* L.) // Cereal Res. Comm., 2008. N 36. P. 57–62.
- European Commission. Community Reference Laboratory for GM Food and Feed, 2005. Event-specific for the quantitation of maize line NK603 using real-time PCR. http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/summaries/NK603report_mm.pdf
- Gagkaeva T.Yu., Gavrilova O.P., Loskutov I.G., Yli-Mattila T. Sources of resistance to *Fusarium* head blight in VIR oat collection // Euphytica, 2013. N 191. P. 355–364.
- Tekauz A.B., Fetch M.J., Rossnagel B.G., Savard M.E. Progress in assessing the impact of *Fusarium* head blight on oat in western Canada and screening of *Avena* germplasm for resistance // Cereal Res. Comm., 2008. N 36. P. 49–56.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 46–47

COMPARATIVE ASSESSMENT OF WILD *AVENA* L. SPECIES FOR RESISTANCE TO *FUSARIUM* BY QUANTITATIVE PCR

T.Yu. Gagkaeva¹, O.P. Gavrilova¹, E.V. Blinova², I.G. Loskutov^{2,3}

¹All-Russian Institute of Plant Protection, t.gagkaeva@mail.ru

²N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources,

³Saint Petersburg State University

The resistance of 17 wild *Avena* species (*A. agadiriana*, *A. atlantica*, *A. barbata*, *A. canariensis*, *A. clauda*, *A. damascene*, *A. fatua*, *A. hirtula*, *A. insularis*, *A. longiglumis*, *A. ludoviciana*, *A. magna*, *A. murphyi*, *A. occidentalis*, *A. sterilis*, *A. vaviloviana*, and *A. wiestii*) to *Fusarium* grain infection has been evaluated after artificial inoculation by *F. culmorum*. Quantification of DNA trichothecene producing *Fusarium* species (TriDNA) was performed by TaqMan real-time PCR. The amount of TriDNA showed substantial variation from 0.19 till 5.19 ng/100 ng of total DNA. The tetraploid oats contained considerably more fungal TriDNA (in 3.4–4.3 times), then diploid and hexaploid *Avena* species. The tetraploid oats *A. insularis*, *A. magna* and *A. murphyi* were heavy infected by *Fusarium*. The assessment of large genetic diversity of wild *Avena* species by using DNA testing is one of the first experiences in the world and requires further research.

УДК 632.4

К МИКОБИОТЕ СОРНЫХ И ДИКОРАСТУЩИХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ СЕВЕРНОЙ ОСЕТИИ

Е.Л. Гасич, Ф.Б. Ганнибал, А.О. Берестецкий, Л.Б. Хлопунова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, Elena_gasich@mail.ru

Первоначальным этапом разработки метода биологического контроля сорных растений при помощи фитопатогенных грибов является выявление видового состава микромицетов, поражающих сорняки. Цель наших исследований – определение видового состава микромицетов на сорных и дикорастущих травянистых растениях Республики Северная Осетия-Алания. Большая часть образцов была собрана в августе 2012 года в Пригородном, Алагирском, Ирафском и Ардонском районах. Микромицеты обнаружены на 91 виде растений из 29 семейств. Образцы депонированы в гербарии грибов Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР) – ЛЕР. Всего было идентифицировано 154 вида микромицетов из 47 родов 4 отделов. Среди обнаруженных видов 101 указывается впервые для исследованной территории. На долю Deuteromycota приходится 71% выявленных видов, Basidiomycota – 18%, Ascomycota – 10%, Oomycota – 1%.

Ключевые слова: фитопатогенные микромицеты, сорные растения.

Фитопатогенные грибы способны вызывать эпифитотии в популяциях растений-хозяев и тем самым контролировать их численность. Поэтому фитопатогенные грибы интенсивно исследуются как возможные агенты биоконтроля сорных растений. Базовым этапом разработки метода биологического контроля сорных растений при помощи фитопатогенных грибов является выявление видового состава микромицетов, поражающих сорняки.

Микобиоту Северной Осетии начали изучать с 1924 года. Было выявлено 811 видов грибов, в том числе 12 видов новых для науки [Чернецкая, 1926, 1929, 1952]. В девяностых годах прошлого столетия в рамках создания Кадастра растительного мира Северной Осетии проводилась инвентаризация микобиоты этого региона. В результате был составлен аннотированный список, включающий 604

вида грибов и грибоподобных организмов [Комша, 2000]. Таким образом, изучению микобиоты Северной Осетии уделялось определенное внимание, в том числе фитопатогенным микромицетам. Однако специального изучения микобиоты сорных растений на ее территории ранее не проводилось. Цель наших исследований – определение видового состава микромицетов на сорных и дикорастущих травянистых растениях Северной Осетии.

Сбор пораженных грибами сорных и дикорастущих травянистых растений проводился в августе 2012 года во Владикавказе, Пригородном районе (с. Даргавс, с. Фазикау, ст. Архонская), Алагирском р-не (Цей, с. Верхний Цей, п. Бурон), Ирафском р-не (с. Дзинага), Ардонском р-не (с/п Мичуринское). Небольшая часть образцов была собрана в августе 2004 и 2005 гг. и июле 2007 г.

Микромицеты обнаружены на 91 виде растений и 41 растении, не идентифицированном до вида из 96 родов 29 семейств. В общей сложности идентифицировано 154 вида микромицетов из 47 родов 4 отделов. На долю Deuteromycota приходится 70.8% выявленных видов, Basidiomycota – 17.5%, Ascomycota – 10.4%, Oomycota – 1.3%. Среди обнаруженных видов 101 указывается впервые для РСО-Алания. Наиболее богатыми по числу выявленных видов оказались рода *Ascochyta*, *Puccinia* и *Septoria*.

Вследствие вертикальной зональности, видовой состав сорных растений Северной Осетии неоднороден и отличается существенным разнообразием. В посевах сельскохозяйственных культур в основном преобладают многолетние корневищные и корнеотпрысковые сорняки (гумай, осот полевой, бодяк, полынь), а также некоторые однолетние виды (щирца, марь, звездчатка, амброзия) [Кожаяев, Адиньяев, 2013].

Поскольку агротехнические и химические меры борьбы с сорняками не всегда бывают достаточно эффектив-

ными, актуальной становится разработка дополнительных методов их контроля, в том числе при помощи фитопатогенных грибов. Поэтому среди выявленных микромицетов для дальнейшего изучения в качестве потенциальных агентов биоконтроля, представляют интерес возбудители пятнистостей таких трудноискоренимых сорных растений, как гумай (возбудитель *Ascochyta sorghina* Sacc.), бодяк полевой (возбудители *Ramularia cynarae* Sacc., *Septoria cirsi* Niessl), осот полевой (*Alternaria sonchi* Davis, *Ascochyta tussilaginis* Oudem., *Septoria sonchi* Sacc.) вьюнок полевой (*Diplodina convolvuli* Allesch. *Septoria convolvuli* Desm.), а также возбудитель листовой пятнистости широко распространенных в посевах видов мари (*Passalora dubia* (Riess) U. Braun). Использование фитопатогенных грибов может быть актуальным также для подавления амброзии полыннолистной, которая является одним из наиболее опасных сорняков-аллергенов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект 14-26-00067)

Библиографический список (References)

Кожаяев А.Л. Грибы. В кн: Природные ресурсы Республики Северная Осетия-Алания. Владикавказ: Проект-Пресс, 2000. С. 43–71.

Чернецкая З.С. Новые виды северокавказской микофлоры // Материалы по микологии и фитопатологии, 1926. Т. 5. В. 2. С. 161–176.

Чернецкая З.С. Материалы к изучению флоры грибов Северной Осетии // Труды Сев.-Кавк. ассоц. н.-и. ин-тов, 1929. N 52. 116 с.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 47–48

Чернецкая З.С. Мучнисто-росяные грибы предгорий и горной зоны Северного Кавказа // Труды Сев.-Осет. с.-х. ин-та, 1952. Т. 2(15). С. 99–141.

Кожаяев В.А., Адиньяев Э.Д. Особенности засоренности посевов и продуктивность пропашных, озимых зерновых культур и многолетних трав в различных природных зонах РСО-Алания // Известия Горского государственного аграрного университета. 2013. Т. 50. 4. С. 17–21.

MATERIALS TO THE STUDY OF WEEDS AND WILD HERBACEOUS PLANTS IN THE REPUBLIC OF NORTH OSSETIA-ALANIA

E.L. Gasich, Ph.B. Gannibal, A.O. Berestetskiy, L.B. Khlopunova

All-Russian Institute of Plant Protection, Elena_gasich@mail.ru

The aim of our research was to determine species composition of micromycetes on weeds and wild herbaceous plants in Republic of North Ossetia-Alania. The sampling was carried out mainly in August 2012 in four districts of the Republic. Micromycetes were revealed on 91 plant species and some plants identified up to generic level. Host plants represented 96 genera and 29 families. Specimens were deposited in the Mycological Herbarium of All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR) – LEP. Totally 154 micromycetes species from 47 genera of 4 phyla of fungi and fungus-like organisms were identified. Among those species 101 taxa were found in North Ossetia for the first time. Mitosporic fungi (former phylum Deuteromycota) compose 71% of revealed species, Basidiomycota – 18%, Ascomycota – 10%, Oomycota – 1%. The biggest species diversity was found among genera *Ascochyta*, *Puccinia* and *Septoria*.

УДК 57.084.1

ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *PARANOSEMA LOCUSTAE* (OPISTHOSPORIDIA: MICROSPORIDIA) В *LOCUSTA MIGRATORIA* (INSECTA: ORTHOPTERA)

А.В. Герус, И.В. Сендерский, М.В. Левченко, Т.А. Закота, Ю.С. Токарев

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
gerus_13@mail.ru

Цель работы – описать особенности культивирования микроспоридии *Paranosema locustae* в перелётной саранче *Locusta migratoria*. В результате наблюдений за развитием насекомых при различных вариантах экспериментального заражения саранчи спорами микроспоридий выявлен ряд ключевых моментов, имеющих значение как для проведения биотестов, так и для разработки технологий массового производства этих облигатных внутриклеточных паразитов. В частности, установлено влияние срока хранения спор, возраста заражаемых насекомых и фазовой изменчивости перелётной саранчи (gregaria/solitaria) на выживаемость хозяев и продуктивность паразитов. Подбор инфекционной дозы при массовом культивировании микроспоридий in vivo требует тонкого баланса для обеспечения, с одной стороны,

максимально возможных показателей интенсивности и экстенсивности заражения, с другой – максимально длительного выживания зараженных особей для получения большего количества спор.

Ключевые слова: микроспоридии, споры, инфекционная доза, срок хранения, культивирование *in vivo*.

Разведение перелётной саранчи *Locusta migratoria* в лабораторных условиях используется в различных целях, не последнее место среди которых занимает использование личинок в качестве модельного объекта при проведении тестирования биологической эффективности микробиологических препаратов на основе бактерий, грибов, микроспоридий, а также их сочетаний [Tokarev et al., 2011]. Для массового культивирования *P. locustae* в интересах защиты растений необходим тщательный подбор условий, гарантирующих максимальную продуктивность при сохранении высокой инфекционности спор паразита. Среди ключевых элементов, прежде всего, следует указать вид хозяина, его возрастную и фазовую изменчивость, инфекционную дозировку, условия содержания культуры. Микроспоридия *P. locustae* способна заражать свыше 100 видов прямокрылых насекомых. Представляется логичным, что оптимальным для массовой наработки спор *in vivo* будет использование восприимчивых к заражению видов насекомых, обладающих крупными размерами, неприхотливых в своих требованиях и легко поддерживаемых в культуре. *L. migratoria* – типовой хозяин микроспоридии *P. locustae*, и данная система широко используется как модельный объект паразитологических исследований, однако биотехнологический потенциал этого вида насекомых в качестве лабораторного хозяина для этого паразита изучен недостаточно.

Оптимальная доза заражения для данной паразито-хозяинной системы зависит от многих факторов, в том числе от возраста насекомых. Для микроспоридий действует следующая закономерность: чем старше насекомые, тем выше их устойчивость к заражению. При заражении личинок а) младших и б) средних возрастов лабораторной культуры *Locusta migratoria migratorioides* в дозировке 1 млн спор на особь мы наблюдали 100%-ную заражённость обоих вариантов, однако в первом случае заболевание вызывало интенсивную гипертрофию заражённых тканей, содержащих до 5 млрд спор/особь, тогда как во втором случае гипертрофия тканей была слабо выражена и интенсивность спорообразования паразита была на порядок ниже. При заражении личинок младших возрастов, однако, есть риск вызвать слишком интенсивную атаку высокоактивными спорами микроспоридий в больших дозировках, что может служить причиной ранней гибели саранчи (начиная с первых суток эксперимента), объяснение чему может крыться в таких чрезмерных воздействиях, как повреждение эпителия кишечника, служащего барьером для кишечных микроорганизмов, или подавление иммунной системы насекомого, или их совокупности.

В связи с тем, что заражение осуществляется перорально, тонким моментом может стать доставка инфекционно-

го начала в организм саранчи. Чтобы личинки потребили весь контаминированный корм, необходимо выдержать их без корма не менее 24 часов. Оптимальные условия для развития насекомых могут быть оптимальными и для развития паразитирующих в них микроспоридий [Елфимова, 1985], однако при этом достаточно велик риск избавления от инфекции вследствие поддержания активности защитных реакций организма на высоком уровне. В связи с этим общепринятой практикой становится понижение температуры ниже оптимальной на несколько градусов с целью создания провокационного фона для развития микроспоридиозов, и в том числе для индукции дополнительных фаз жизненного цикла [Becnel, Andreadis, 1999]. Возможен перевод насекомых, предназначенных для заражения, на содержание при пониженной температуре за несколько суток до инфицирования с целью модификации иммунного статуса в сторону снижения устойчивости к патогенам, однако в случае с перелётной саранчи этого следует избегать для сохранения высокой активности и прожорливости насекомых, которых следует содержать при 24–27°C только после потребления ими корма, контаминированного спорами паразитов. Первые несколько суток наиболее критичны для успеха инфекции. И хотя стрессированное состояние (пониженная температура, применение химических средств, вызывающих нарушение гормональной или иммунной системы, и т.п.) способствует развитию микроспоридиоза, чрезмерные стрессы на ранних этапах заражения, например, транспортировка насекомых, может способствовать их избавлению от инфекции.

Поскольку для стадных видов саранчовых характерна фазовая изменчивость, одиночное содержание личинок перелётной саранчи вызывает их переход из стадной формы (*gregaria*) в одиночную (*solitaria*). Восприимчивость к микроспоридиозу при этом возрастает, что приводит к повышенной смертности заражённых насекомых при одиночном содержании по сравнению с групповым.

Споры микроспоридий разных видов сильно различаются по сохранности вне живого организма хозяина. Для паразитов наземных хозяев отмечается хорошая сохранность инфекционных свойств в трупах, в том числе при их хранении в высушенном или замороженном виде. В жидком азоте споры *P. locustae* сохраняют инфекционность в течение 25 лет [Maddox, Solter, 1996]. По нашим данным, водная суспензия очищенных спор при +4°C может сохранять высокий инфекционный потенциал в течение пяти лет, однако даже кратковременные нарушения режима хранения (особенно при условии их повторения) вкупе с бактериальной контаминацией препаратов могут снижать инфекционность спор на порядок.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 16-14-00005.

Библиографический список (References)

- Елфимова Т.М. Оптимальные условия получения спор двух микроспоридий рода *Vairimorpha* в капустной совке // Автореф. ... к.б.н., 1985. Л.: ВИЗР. 20 с.
- Becnel J.J., Andreadis T.G. Microsporidia in insects // The Microsporidia and Microsporidiosis. Washington D.C.: ASM Press, 1999. p. 447–501.
- Maddox J.V., Solter L.R. Long-Term Storage of Infective Microsporidian Spores in Liquid Nitrogen // J. Euk. Microbiol., 1996. V. 43. p. 221–225.
- Tokarev Y.S., Levchenko M.V., Naumov A.M., Senderskiy I.V., Lednev G.R. Interactions of two insect pathogens, *Paranosema locustae* (Protista: Microsporidia) and *Metarhizium acridum* (Fungi: Hypocreales), during a mixed infection of *Locusta migratoria* (Insecta: Orthoptera) nymphs. J. Invertebr. Pathol., 2011. V. 106. p. 336–338.

CULTIVATION OF *PARANOSEMA LOCUSTAE* (OPISTHOSPORIDIA: MICROSPORIDIA) IN *LOCUSTA MIGRATORIA* (INSECTA: ORTHOPTERA)

A.V. Gerus, I.V. Senderskiy, M.V. Levchenko, T.A. Zakota, Y.S. Tokarev

All-Russian Institute of Plant Protection, gerus_13@mail.ru

The study goal is to describe some details of cultivation of the microsporidium *Paranosema locustae* in migratory locust *Locusta migratoria* under lab conditions. Observation of experimental locust infection with microsporidia allowed determination of some key features to be considered when performing bioassays or development of technologies for mass cultivation of these obligate intracellular parasites. In particular, impact of spore storage period, larval instar and insect phase (gregaria/solitaria) used for infection was estimated. It is concluded that choosing an optimal infective dosage for mass propagation of microsporidia in vivo is a fine balance of providing maximally possible levels of intensity and extensity of an infection on one hand and maximally long survival of infected samples for higher spore yields.

УДК 574.42

БИОИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ОЦЕНКЕ ЦИКЛА УГЛЕРОДА В УПРАВЛЯЕМЫХ ТЕХНОГЕННЫХ ЛЕСАХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Д.А. Голубев^{1,2}, М.Ю. Филатова¹, Л.Т. Крупская^{1,2}

¹Тихоокеанский государственный университет, Хабаровск, Россия,

²Дальневосточный НИИ лесного хозяйства, Хабаровск, Россия, poet.golubev@mail.ru

В статье изложены результаты исследования проблемы использования биоинформационных технологий в оценке цикла углерода в управляемых техногенных лесах Приморского края, что явилось целью работы. При сборе и анализе материалов использованы следующие методические подходы: лесоводственные, геоэкологические, лесотаксационные, статистические. Расчеты выполнены в программе «РОБУЛ». Анализ, обобщение и систематизация литературных данных свидетельствует о том, что значительное количество публикаций посвящено различным аспектам углеродного бюджета лесов России. Установлено, что в глобальном углеродном цикле леса играют важную роль, поскольку характеризуются наибольшими запасами фитомассы. Однако рост техногенной деятельности человека приводит к нарушению баланса углеродного круговорота планеты. Выявлены основные типы лесных экосистем и описаны лесохозяйственные мероприятия, влияющие на баланс углерода в управляемых техногенных лесах Приморского края. Результаты исследования свидетельствуют об уменьшении запаса углерода в исследуемом районе в 2015 г., по сравнению с 2003г. Обнаружено постепенное увеличение выбросов углекислого газа в атмосферу для покрытых лесом площадей в Приморском крае.

Ключевые слова: запас углерода, бюджет углерода, биоинформатика, управляемые леса.

Введение. В настоящее время происходят изменения в окружающей среде и резкое ухудшение экологических условий жизни. За последние пять лет, по материалам доктора Митчелла (по состоянию на сентябрь 1999 года), было получено такое количество данных об окружающей среде, сколько вся наша цивилизация получила за шесть тысяч лет. Лавинообразный поток научно-технической информации ставит перед необходимостью создания новых технологий для ее обработки и решения различного рода задач, в том числе природоохранного характера. Сейчас трудно найти такую область науки, которая бы обходилась без методов информатики. Не избежали этого и естественные науки. Опираясь на признание важной роли передачи, хранения и обработки информации в биологических системах, в 1970 году Полина Хогеверг ввела термин «биоинформатика», определив его как изучение информационных процессов в биотических системах. Другими словами – это накопление биологических знаний в форме, обеспечивающей их наиболее эффективное использование, построение и анализ математических моделей биологических систем и их элементов. И. Лагунина считает, что под биоинформатикой следует понимать анализ живых организмов с применением компьютерных технологий. Однако, на сегодняшний день существует множество ее определений и интерпретаций, но пока это еще не

совсем устоявшийся термин. Относительно новым разделом наук о жизни, стремительно развивающимся во всем мире являются биоинформационные технологии, обязанные своим появлением накоплению обширных экспериментальных данных в области изучения биологических систем. Необходимость обработки огромных массивов информации, накопленной в ходе биологических экспериментов, обусловил огромный рост публикаций в этом направлении. Наиболее информативным показателем является углеродный бюджет, отражающий физиологическое состояние, продуктивность и жизнеспособность лесных экосистем, а также степень влияния на них основных факторов внешней среды и антропогенного воздействия. В связи с этим цель исследования состояла в оценке цикла углерода в управляемых техногенных лесах с использованием биоинформационных технологий.

Объекты и методы исследования. В качестве объектов исследования явились лесные экосистемы. При оценке углеродного бюджета лесной территории использована информация о возрастной структуре лесов и о величинах их приростов в данном регионе, материалы Государственного лесного реестра (ГЛР), Лесные планы субъектов ДФО, лесохозяйственных регламентов лесничеств. Обработка собранной информации осуществлялась в Программе «РОБУЛ». При сборе и анализе материалов использова-

ны следующие методические подходы: лесоводственные, геоэкологические, лесотаксационные, статистические.

Результаты и обсуждения. Анализ, обобщение и систематизация литературных данных свидетельствует о том, что значительное количество публикаций посвящено различным аспектам углеродного бюджета лесов России [Моисеев, 2007; Щепашенко и др., 2008, 2013; Швиденко и др., 2011; Ведрова, 2011; Федоров, 2011; Замолотчиков и др., 2013]. В большинстве своем эти публикации рассматривают отдельные лесные формации и процессы углеродного цикла в разных регионах страны, в так называемых «управляемых лесах». Опубликованные работы не содержат оценок неопределенностей результатов, равно как и информации, достаточной для такой оценки. Обзор литературы показывает, что в глобальном углеродном цикле леса играют важную роль, поскольку характеризуются наибольшими запасами фитомассы. Однако рост техногенной деятельности человека приводит к нарушению баланса углеродного круговорота планеты. Поскольку влияние лесов на климат проявляется через участие в углеродном цикле, необходимы предложения, направленные на приостановку изменения климата путем применения наиболее рациональных систем лесохозяйственной деятельности. В Дальневосточном федеральном округе эта проблема практически не изучена. Нами сделана первая попытка оценки цикла углерода в управляемых техногенных лесах на примере Приморского края.

Проведенные исследования позволили на основе данных лесных планов Приморского края, нормативных документов лесорастительного районирования Российской Федерации, природно-географической дифференциации выявить основные типы лесных экосистем, входящих в состав Приамурско-Приморского хвойно-широколиственно-

го лесного района. Описаны основные лесохозяйственные мероприятия. К ним относятся лесовосстановительные работы, уход за лесом, санитарные рубки (сплошные и выборочные), а также лесозащитные и противопожарные мероприятия, влияющие на баланс углерода в управляемых лесах. Результаты исследования представлены на рис. 1–2, свидетельствующие об уменьшении запаса углерода в исследуемом районе в 2015 г., по сравнению с 2003 г.

Данные таблицы показывают, что происходит постепенное увеличение выбросов углекислого газа в атмосферу для покрытых лесом площадей в Приморском крае.

Нами сделаны предварительные выводы, которые будут уточняться в дальнейших исследованиях. Однако использование биоинформационных технологий послужило основой понимания основных механизмов, регулирующих процессы накопления и расхода углерода экосистемами, являющихся теоретической основой управления углеродным бюджетом и, следовательно, важнейшей предпосылкой разработки рациональных стратегий перехода к адаптивному лесному хозяйству и обоснованию системы мероприятий по смягчению нежелательных климатических условий.

Таблица. Бюджет углерода для покрытых лесом площадей Приморского края

	Бюджет углерода для покрытых лесом площадей, т ⁶ С год ⁻¹				
	2003	2006	2008	2009	2015
Биомасса древостоя	3.099	2.964	3.113	3.143	3.231
Мертвая древесина	0.157	0.133	0.144	0.172	0.202
Подстилка	-0.015	-0.021	-0.009	-0.013	-0.012
Почва (0–30 см)	-0.141	-0.18	-0.09	-0.120	-0.108
Итого	3.100	2.896	3.158	3.182	3.313

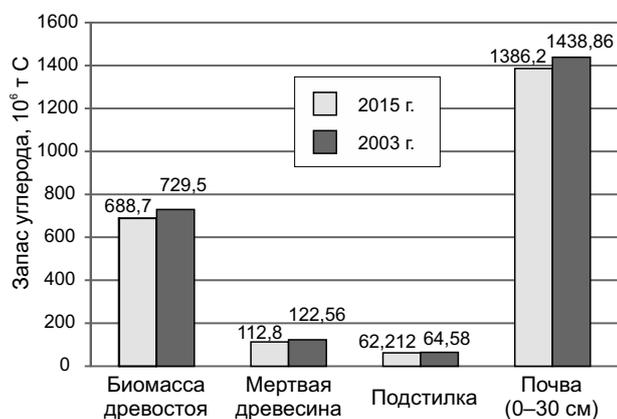


Рисунок 1. Запас углерода на территории Приморского края за 2003, 2015 гг., 10⁶ т С

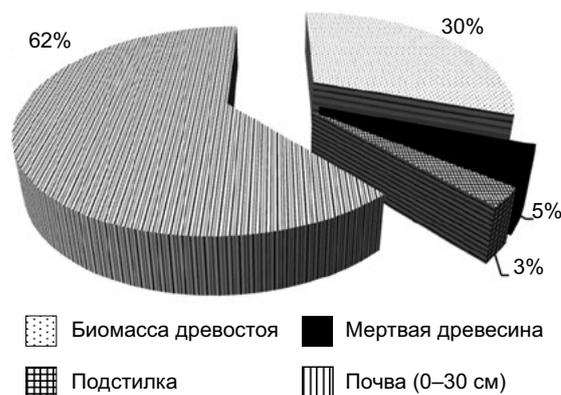


Рисунок 2. Процентный запас углерода на территории Приморского края за 2015 год

BIOINFORMATIC TECHNOLOGIES IN CYCLE ASSESSMENT CARBON IN MAN-MADE FORESTS PRIMORIYE

D.A. Golubev^{1,2}, M.U. Filatova¹, L.T. Krupskaya^{1,2}

¹Pacific National University,

²Far East Scientific-Research Institute of Forestry, poet.golubev@mail.ru

The article presents the results of the research problems of the use of information technology in the assessment of carbon cycle in a controlled man-made forests of Primorye Territory, which was the purpose of the work. When collecting and analyzing materials, the following methodological approaches: silvicultural, geoecological, inventory areas, statistics. The calculations are performed in the regional assessment of forest carbon budget program (RAFCB). Analysis, generalization and systematization

of data in the literature suggests that a significant number of publications devoted to various aspects of the carbon budget of forests of Russia. It was established that in the global carbon cycle, forests play an important role, as characterized by the largest reserves of phytomass. However, the growth of man-made human activity leads to disruption of the balance of the carbon cycle of the planet. The basic types of forest ecosystems and forestry activities are described that affect the carbon balance of managed forests technological Primorye. The study results indicate a decrease in the carbon stock in the study area in 2015, compared with 2003. It was found a gradual increase in carbon dioxide emissions for the forest-covered areas in the Primorsky Territory.

УДК 632.4

ПРОБЛЕМЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРИБОВ РОДА *PHOMA SENSU LATO* В УСЛОВИЯХ ЧИСТОЙ КУЛЬТУРЫ

М.М. Гомжина

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
gomzhina91@mail.ru

Род *Phoma sensu lato* представлен анаморфными аскомицетами, образующими пикнидии, содержащие одноклеточные гиалиновые конидии. Лучший способ идентификации этих организмов заключается в сравнительном анализе спорулирующих структур (пикнидий и конидий), покоящихся стадий, способов конидиогенеза, биохимических и других биологических аспектов как *in vivo*, так и *in vitro*.

Ключевые слова: фомоидные грибы, морфологические признаки, идентификация, *Phoma* spp.

Фомоидные грибы (грибы рода *Phoma* s.l. (Sacc. 1880)) – крупная группа грибов – анаморфных аскомицетов, которые широко распространены по всему земному шару и которые встречаются в различных природных экосистемах и агроценозах [Aveskamp et al., 2008]. Рациональное управление агроценозами подразумевает точную идентификацию возбудителей болезней растений, включая возбудителей фомозов.

Таксономия фомоидных грибов весьма противоречива. Многие признаки, считающиеся для рода таксономически важными, трудны для наблюдения и однозначного восприятия. До настоящего времени всё еще нет четких границ видов и родов фомоидных грибов. Это делает сложной работу, как систематиков, так и специалистов, столкнувшихся с необходимостью идентификации *Phoma* spp.

Традиционно грибы этого рода определяли по питающему растению, однако важность этого признака была переоценена, поскольку зачастую один и тот же вид может поражать абсолютно разные растения [Rai et al., 2013]. Наиболее яркий пример – *Ph. exigua*, который был обнаружен на очень широком круге хозяев [Rao, Thirumalachar, 1981]. Впоследствии в качестве основных диагностических признаков стали использовать особенности конидиогенеза [Boerema, Bollen, 1975] и морфологические характеристики, наблюдаемые *in vitro*. В 2004 году Боерема с коллегами подводя итог продолжительной работы, собрав воедино все имеющиеся данные о фомоидных грибах, опубликовали подробное руководство, содержащее информацию о морфологических признаках 223 видов. По морфологическим признакам грибов, наблюдаемых как *in vivo*, так и *in vitro*, авторы предложили выделять внутри рода *Phoma sensu stricto* 9 секций, а в понимании *sensu lato* включать ещё несколько родов, которые имеют морфологическое сходство, но не обладают филогенетическим родством. Следует отметить, что это деление не отражает филогенетических взаимоотношений, а основано исключительно на морфологических признаках, хотя и подразумевает некоторую согласованность с эволюционным процессом [Boerema et al., 2004]. Несмотря на очевидную «искусственность» системы, предложенная морфологиче-

ская концепция рода, видов и соответствующий ключ для их определения на сегодняшний день единственно удобные в применении для идентификации фомоидных грибов *in vitro*.

В качестве таксономически значимых признаков для разграничения родов и видов было предложено изучать комплекс морфологических, биологических и биохимических признаков: характеристики пикнид, конидий, хламидоспор, склероциев, особенности конидиогенеза и жизненного цикла. Важной была признана и оценка разницы в скорости роста на разных питательных средах, способность к продукции кристаллов, вторичных метаболитов и пигментов [Boerema et al., 2004]. На первый взгляд, морфология фомоидных грибов скудна, в целом, все они формируют сходные структуры бесполого размножения – пикниды, содержащие бесцветные одноклеточные конидии. Однако, скрупулёзное изучение этих грибов позволяет выявить разнообразие и богатство морфологии.

Диапазон варьирования наблюдаемых признаков перекрывается для представителей разных секций и разных родов. Так, например, наличие в пикнидах двух типов очевидно различающихся конидий может быть характерно как для представителей секции *Heterospora*, так и для секции *Phyllostictoides* и *Sclerophomella*.

Часто морфологические признаки нестабильны и не все изоляты в полной мере могут демонстрировать полный набор интересующих характеристик. Так, например, не всегда представляется возможным наблюдать образование отдельными изолятами пигментов или кристаллов. Не всегда «охотно» происходит образование пикнид, в равной степени как не всегда эти пикниды содержат зрелые конидии.

Фомоидные грибы способны формировать разнообразные покоящиеся структуры, такие, как хламидоспоры, склероции, микросклероции и микропикниды. Особенности этих структур нередко являются диагностическими признаками, которые порой, однако, бывает довольно трудно оценить. Так, микропикниды, микросклероции или агрегаты одноклеточных хламидоспор могут быть трудно отличимы друг от друга.

Наличие в жизненном цикле нескольких синанаморф и синтелеоморф также может вносить определённые затруднения при проведении идентификации. Кроме того, наличие или отсутствие этих стадий в жизненном цикле, а также другие морфологические характеристики могут ощутимо различаться при наблюдении фомоидных грибов *in vivo* и *in vitro*.

Чтобы избежать затруднений и ошибок при идентификации фомоидных грибов, необходимо производить оценку признаков в сравнении у как можно большего ко-

личества изолятов, при возможности исследовать интересные признаки, как *in vivo*, так и *in vitro*. Для проведения же наиболее точной и корректной идентификации, необходимо оценивать весь спектр признаков: микроморфологические *in vivo* и *in vitro*, макроморфологические, субстратную специализацию, биохимические, молекулярно-генетические.

Работа проведена при поддержке Российского научно-го фонда (проект РНФ 14-26-00067).

Библиографический список (References)

Aveskamp M. M., de Guyter J., Crous P. W. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance // *Fungal Diversity*, 2008. P. 1–18.
Boerema, G.H., Bollen, G.J. Conidiogenesis and conidial septation as differentiating criteria between *Phoma* and *Ascochyta* // *Persoonia*, 1975. Vol. 8. P. 111–144.

Boerema G. H., de Gruyter J., Noordeloos M. E., Hamers M. E. C. *Phoma* identification Manual. CABI Publishing. 2004. P. 470.
Rai M. K., Tiwari V. V., Irinyi L., Kövics G. J. Advances in taxonomy of genus *Phoma*: polyphyletic nature and role of phenotypic traits and molecular systematics // *Indian journal of microbiology*. 2013. Vol. 54 (2). P. 123–128.
Rao S., Thirumalachar U. *Phoma exigua* infecting brinjal leaves // *Indian phythopathology*. 1981. P. 34–37.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 52–53

PROBLEMS OF IDENTIFICATION SPECIES *PHOMA SENSU LATO IN VITRO*

M.M. Gomzhina

All-Russian Institute of Plant Protection, gomzhina91@mail.ru

The genus *Phoma sensu lato* represents anamorphic Ascomycetes, that produce pycnidia, containing one-celled hyaline conidia. The best way to identify these organisms – is comparative study of its structures of sporulation (pycnidia and conidia), resting structures, modes of conidiogenesis, biochemical other biological aspects both *in vivo* and *in vitro*.

УДК 575.22

ПОЛИМОРФИЗМ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНА COI ПОПУЛЯЦИЙ ВИДОВ-ДВОЙНИКОВ РОДА *OSTRINIA* (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA)

И.В. Грушевая, Ю.М. Малыш, А.Г. Конончук, А.Н. Фролов

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, grushevaya_12@mail.ru

Цель работы – оценить уровень полиморфизма нуклеотидной последовательности фрагмента гена 1 субъединицы цитохромоксидазы COI мтДНК в обитающих в Европейской части России популяциях стеблевых мотыльков *Ostrinia nubilalis* Hbn. и *Ostrinia scapularis* Wlk., собранных с однодольных и двудольных растений-хозяев, соответственно. Для насекомых с кукурузы, полыни и конопли получен набор молекулярных гаплотипов, из которых общими для всех популяций были два мажорных гаплотипа, составляющие около 80% выборки, а остальные минорные варианты были специфичны для *O. scapularis* и *O. nubilalis*. Иными словами, определить точную видовую принадлежность одной особи мотылька по локусу COI, не представляется возможным, однако наличие видоспецифичных гаплотипов в выборках насекомых предполагает принципиальную возможность диагностировать выборки насекомых по структуре минорных гаплотипов.

Ключевые слова: *Ostrinia*, стеблевые мотыльки, структура популяций, гаплотип.

Род *Ostrinia* объединяет комплекс трудноразличимых близкородственных биологических рас и видов-двойников. Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о своеобразии трофических связей видов и внутривидовых форм рода *Ostrinia* Hbn. с кукурузой и двудольными сорняками (конопля, дурнишник) [Серапионов и др., 2008; Фролов, 1984]. Анализ микросателлитной ДНК подтвердил существенные различия в структуре симпатрических популяций рода *Ostrinia*, распространённых на западе и востоке Краснодарского края. В настоящее время обитающие на двудольных и однодольных видах растений-хозяев стеблевые мотыльки рассматриваются как самостоятельные виды: *O. nubilalis* и *O. scapularis*, соответственно [Frolov et al., 2012].

Для молекулярного анализа (оценка полиморфизма локуса мтДНК цитохромоксидазы) были взяты 4 выборки

гусениц *O. nubilalis* и *O. scapularis* (из Ростовской и Белгородской областей, Краснодарского и Ставропольского краев), собранных соответственно с кукурузы и полыни или конопли и рассматриваемых в качестве подвыборки. Из 119 проанализированных образцов 78 было собрано с кукурузы и 41 – с полыни или конопли. Всего выявлено 18 различных молекулярных гаплотипов, при этом доминирующий вариант, условно обозначенный как «гаплотип А», встречался в 75% случаев, второй по частоте встречаемости гаплотип – в 8.5% случаев, остальные 16 гаплотипов встречались не чаще, чем у одной или двух особей, то есть с частотой 0.84–1.68%. Различия между гаплотипами заключались в одиночных нуклеотидных заменах, от одной до трёх на участке протяжённостью ок. 650 н.о. При сравнении структуры двух подвыборок с двудольных растений и кукурузы между собой обнаружилось, что

в обеих доминируют гаплотипы А и В, а остальные минорные варианты были специфичны для *O. scapularis* и *O. nubilalis*, то есть гаплотипы С-К встречаются только среди насекомых с кукурузы, а гаплотипы L-Q – только среди насекомых с двудольных растений. Минорные гаплотипы, встречающиеся только в пределах одной подвыборки, обозначены как «видоспецифичные»; суммарная частота их встречаемости составила 15–20% (рис.).

Локус COI обладает достаточной разрешающей способностью для идентификации таксонов Metazoa, в том числе Insecta, ранга вида, в том числе криптических видов [Yang et al., 2012; Kirk et al., 2013]. Наличие в обеих подвыборках, соответствующих двум видам рода *Ostrinia*, двух одинаковых мажорных гаплотипов указывает на очень высокий уровень родства этих таксонов, что соответствует данным морфологического анализа и представлениям о недавней дивергенции *O. nubilalis* от *O. scapularis*, которая рассматривается как предковая форма [Frolov et al., 2012]. Установить точную видовую принадлежность одиночной особи стеблевого мотылька по локусу COI, таким образом, не представляется возможным, однако наличие от 15 до 20% видоспецифичных гаплотипов в выборках насекомых указывает на возможность диагностировать выборки насекомых по структуре минорных гаплотипов. Данную систему можно рассматривать как дополнение к системе генотипирования с помощью микросателлитных маркеров.

Библиографический список (References)

- Серпионов Д.А., Дубровина А.Г., Фролов А.Н. Популяционная структура кукурузного мотылька в Краснодарском крае // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. Вып. 5. Матер. докл. межд. научно-практич. конф., 23 сентября – 25 сентября 2008 г. Краснодар: ВНИИБЗР, 2008. С. 158–160.
- Фролов, А.Н. Биотаксономический анализ вредных видов рода *Ostrinia* Hbn. // Этология насекомых. Л.: Наука, 1984. С. 4–100.
- Kirk H., Dorn S., Mazzi D. Molecular genetics and genomics generate new insights into invertebrate pest invasions // Evolutionary Applications, 2013. V. 6. N. 5. С. 842–856.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 53–54

POLYMORPHISM OF NUCLEOTIDE SEQUENCE OF MITOCHONDRIAL COI GENE OF CRYPTIC SPECIES POPULATIONS OF THE GENUS *OSTRINIA* (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA)

I.V. Grushevaya, J.M. Malysh, A.G. Kononchuk, A.N. Frolov

All-Russian Institute of Plant Protection, grushevaya_12@mail.ru

Aim of the study is to access level of polymorphism of nucleotide sequence of COI gene fragment of mTDNA in populations of stem borers *Ostrinia nubilalis* Hbn. and *Ostrinia scapularis* Wlk., originating from monocotyledonous and dicotyledonous plants, respectively. It is found that 80% of samples is represented by two major molecular haplotypes common in both species while the rest minor variants were specific for *O. nubilalis* and *O. scapularis*. In other words, precise determination of a single specimen using COI locus is not possible though presence of species-specific haplotypes suggests availability of genotyping of insect samplings basing upon structure of minor haplotypes.

УДК 632.4

ПОЛИМОРФИЗМ ГРИБА *Puccinia triticina* ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ НА ВИДАХ ПШЕНИЦЫ И ЭГИЛОПС

Е.И. Гульгяева, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова, И.А. Казарцев

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, eigulyaeva@gmail.com

Цель исследований – оценить полиморфизм изолятов гриба *P. triticina* по вирулентности и микросателлитным локусам на растениях-хозяевах родов *Triticum* и *Aegilops* разной ploидности, собранных в географически отдаленных регионах России (Дагестан, Новосибирск) и Казахстане. Выявлено влияние генома и ploидности растения-хозяина на

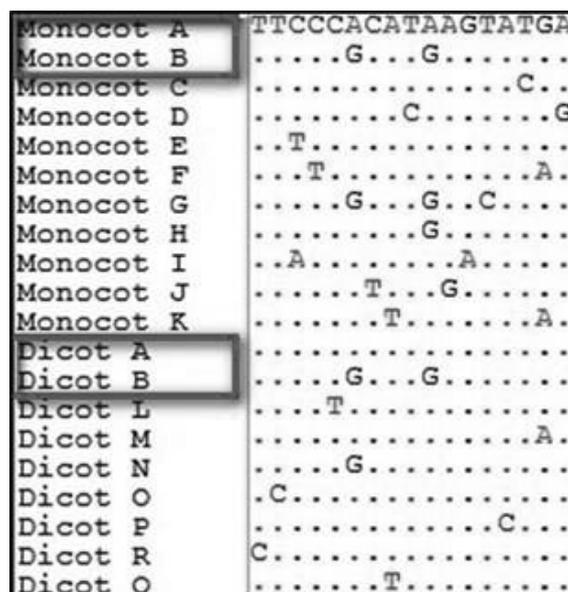


Рисунок. SNP-элаймент 18 гаплотипов локуса первой субъединицы митохондриальной цитохромоксидазы (COI) гусениц *Ostrinia*, собранных с кукурузы (группа «Monocot», *O. nubilalis*), польни и конопли (группа «Dicot», *O. scapularis*). Гаплотипы А-В, встречающиеся у обоих видов, выделены прямоугольной рамкой

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №№ 15-04-01226-а и 16-54-00144-Бел_а.

генетическую изменчивость гриба по вирулентности. Изоляты с тетраплоидных видов были менее вирулентные, чем с диплоидных и гексаплоидных. Сходство между изолятами с гексаплоидных видов было выше, чем с тетраплоидных. С использованием микросателлитных маркеров не выявлено существенных различий между дагестанскими изолятами с тетраплоидных, диплоидных и гексаплоидных видов. При этом западно-азиатские (новосибирские) популяции с *T. dicoccum* и *T. aestivum*, и казахстанские с твердой отличались от кавказских (дагестанских) по вирулентности и микросателлитным маркерам.

Ключевые слова: бурая ржавчина, SSR-маркеры, *Triticum* spp., *Aegilops* spp.

Коэволюция возбудителя бурой ржавчины пшеницы (*Puccinia triticina* Erikss.) и его растений – хозяев – видов пшеницы и эгилопс в процессе доместикации пшеницы несомненно предопределила генетическую дивергенцию гриба. При этом большинство популяционных исследований гриба выполнено с использованием инфекционного материала с *Triticum aestivum* и *T. durum*. В мировой литературе имеется ограниченная информация о вирулентности и составе популяций *P. triticina* на других видах *Triticum* и *Aegilops*.

Цель настоящих исследований – оценка полиморфизма популяций *P. triticina* по вирулентности и микросателлитным локусам на растениях-хозяевах родов *Triticum* и *Aegilops* разной плоидности.

Инфекционным материалом служили монопустульные изоляты гриба *P. triticina*, выделенные с 17 видов пшеницы и эгилопс (диплоидного *Ae. tauschii*, тетраплоидных – *Ae. crassa* 4x, *T. aethiopicum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *T. turanicum*, *T. durum*, гексаплоидных – *Ae. juvenalis*, *Ae. trivialis*, *T. compactum*, *T. macha*, *T. petropavlovskiyi*, *T. spelta*, *T. sphaerococcum*, *T. vavilovii*, *T. durum*, *T. aestivum*) и собранные в географически отдаленных точках России (Дагестане, Новосибирске) и Северном Казахстане в 2014 г.

Вирулентность тестировали на 20 почти изогенных TcLr-линиях. Для обозначения фенотипов использована буквенная северо-американская номенклатура [Long, Kolmer, 1989]. Работа выполнена по методикам лабораторного культивирования *P. triticina* [Михайлова и др., 2003]. Статистическая обработка результатов анализа вирулентности выполнена с помощью пакета программ Virulence Analysis Tool (VAT) (<http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/members/kosman/VAT.html>).

Выделение ДНК из спорового материала гриба проводили по методике A. Justesen и соавторов [2002]. Для SSR-анализа использовали 18 микросателлитных маркеров (PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR76, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151, PtSSR152, PtSSR158, PtSSR161, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR186, PtSSR13, RB8, RB26, RB35 [Szabo, Kolmer, 2007; Duan et al., 2003]). Фрагментный анализ выполнен на генетическом анализаторе ABI3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Определение размеров SSR-аллелей осуществ-

ляли в программе GeneMapper v4.1. Частоты аллелей и индексы генетических различий рассчитаны с помощью пакета программ GeneAIEx (Genetic analysis in Excel, 6.5 <http://biology.anu.edu.au/GeneAIEx/>).

Все изоляты показали авирулентность на линиях с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и вирулентность на линиях с генами *Lr11*, *Lr14a*, *Lr17a*, *Lr30*. Варьирование в частотах вирулентности отмечено на линиях TcLr1, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr18*, *Lr20* и *Lr26*. Среди 187 изолятов выявлено 40 фенотипов. Число фенотипов варьировало у разных видов пшеницы и эгилопс от 1 (*T. petropavlovskiyi*, *Ae. trivialis*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*, *Ae. crassa*, *T. durum*) до 12 (*Ae. tauschii*). Только 7 фенотипов встречались на 2 и более растениях-хозяевах. Выявлены значимые различия по вирулентности между изолятами с диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных видов. Среднее число аллелей вирулентности (Average virulence complexity (AVC)) различалось в азиатских (Новосибирск – 17, Казахстан – 16.3) и кавказских (Дагестан – 13.2) популяциях с *T. aestivum* и с тетраплоидного вида *T. dicoccum* (Новосибирск – 13, Дагестан – 10.8). Для популяций с гексаплоидных видов показатель AVC варьировал от 15.3 (*Ae. juvenalis*) до 11 (*Ae. trivialis*, *T. vavilovii*), а с тетраплоидных от 8.4 (*T. turanicum*) до 10.8 (*T. dicoccum*). Изоляты *P. triticina* с гексаплоидных видов имели большее сходство с изолятами с мягкой пшеницы, по сравнению с тетраплоидными и диплоидными.

При SSR-анализе выявлен 61 генотип, из них 38 встречались на 2 и более видах пшеницы и эгилопс. Полиморфизм наблюдали по 42 аллелям. Уровень наблюдаемой гетерозиготности (*Ho*) был ниже ожидаемой (*He*). Согласно индексам генетических расстояний (*Fst*, *Nei Genetic Distance*) различия по микросателлитным локусам между дагестанскими изолятами с тетраплоидных и гексаплоидных видов были незначительные. На UPGMA-дендрограмме все они кластеризовались в одну близкородственную группу. При этом, как и по вирулентности, выявлены различия между географическими популяциями: западно-азиатские (новосибирские) с *T. dicoccum* и *T. aestivum*, и казахстанские с твердой отличались от кавказских (дагестанских).

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект №14-26-00067).

Библиографический список (References)

- Михайлова Л.А., Гулятьева Е.И., Мироненко Н.В. Методы исследования генетического разнообразия популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* Rob.ex Desm.f.sp.*tritici*. Санкт-Петербург, РАСХН, ВНИИЗР, Инновац. центр защиты растений. 2003. 24с.
- Duan X., Enjalbert J., Vautrin D., Solignac C., Giraut T. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina* // Mol. Ecol. Notes. 2003. Vol.3. P. 65–67.
- Justesen A.F., Ridout C. J., Hovmöller M. S. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers // Plant Pathology. 2002. V. 51. P. 13–23.
- Long D.L., Kolmer J. A. North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* // Phytopathology, 1989. V.79. P. 525–529.
- Szabo L. S., Kolmer J.A. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina* // Mol.Ecol. Notes. 2007. N 7. P. 708–710.

POLIMORPHISM OF *Puccinia triticina* FUNGUS FOR VIRULENCE AND MICROSATELLITE LOCI ON *TRITICUM* AND *AEGILOPS* SPECIES

E.I. Gulyaeva, E.L. Shaydayuk, M.K. Aristova, I.A. Kazartsev

All-Russian Institute of Plant Protection, eigulyaeva@gmail.com

The aim of research is to evaluate the polymorphism of *P. triticina* isolates for virulence and microsatellite loci on the different ploidy host plants (*Triticum* spp. and *Aegilops* spp.) collected in geographically distant regions of Russia (Dagestan, Novosibirsk) and Kazakhstan. The influence of host plant genome and ploidy on genetic variability of fungus for virulence was revealed. Isolates from tetraploid species were less virulent than from the diploid and hexaploid ones. The similarity between isolates from hexaploid wheats were higher than from tetraploid ones. Differences between Dagestan isolates from tetra- hexa- and diploid species for microsatellite loci were less significant than in virulence. West Asian populations collected in Novosibirsk from *T. dicoccum* and *T. aestivum*, and in Kazakhstan from durum wheat were differed from the Caucasus isolates collected in Dagestan for virulence and microsatellite markers.

УДК 632.4

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ *Puccinia triticina* В ЕВРОПЕЙСКИХ РЕГИОНАХ РОССИИ

Е.И. Гультяева, Е.Л. Шайдаюк, М.К. Аристова, И.А. Казарцев

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, eigulyaeva@gmail.com

Цель исследований: охарактеризовать полиморфизм популяций *Puccinia triticina* по микросателлитным локусам в европейских регионах России в 2006–2014 гг. Выявлено высокое сходство между популяциями Поволжья, Центрального, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов, что подтверждает гипотезу о существовании единой популяции гриба на данной территории, выдвинутую ранее на основании анализа вирулентности.

Ключевые слова: бурая ржавчина, SSR-маркеры, *Triticum* spp., *Aegilops* spp.

Возбудитель бурой ржавчины пшеницы (*Puccinia triticina* Erikss.) встречается практически ежегодно во всех зернопроизводящих областях европейской части России. По данным ряда исследователей [Михайлова, 2006; Сорокина и др., 1990; Гультяева и др., 2011; Коваленко и др., 2012] на данной территории существует европейская популяция гриба. Однако в результате анализа вирулентности в отдельные годы выявляются определенные различия в составе популяций между региональными европейскими популяциями [Гультяева и др., 2015], что может являться следствием естественного отбора по вирулентности на возделываемых генетически разнородных сортах. Микросателлитные маркеры являются селективно-нейтральными, связи с чем, представляло интерес оценить SSR-полиморфизм популяций *P. triticina* в Европейской части РФ.

Инфекционный материал был собран в 2006–2014 гг. Материалом служили 32 изолята из Северо-Западного региона (СЗ) (Калининградская, Псковская, Ленинградская обл.), 8 из Центрального (Ц) (Тульская, Смоленская, Владимирская, Брянская обл.), 37 из ЦЧР (Курская, Липецкая, Воронежская, Тамбовская, Белгородская обл.) и 32 из Поволжья (В) (Чувашия, Нижегородская, Самарская, Саратовская обл.). Все изоляты охарактеризованы по признаку вирулентности на 20 почти изогенных *Lr*-линиях Thatcher (Tc). Выделение ДНК проводили по методике A. Justesen и соавторов [2002]. Для SSR-анализа использовали 18 микросателлитных маркеров (PtSSR13, PtSSR50, PtSSR55, PtSSR61, PtSSR76, PtSSR91, PtSSR92, PtSSR151, PtSSR152, PtSSR158, PtSSR161, PtSSR164, PtSSR173, PtSSR186, PtSSR13, RB8, RB26, RB35 [Szabo, Kolmer, 2007; Duan et al., 2003]). Фрагментный анализ проводили на генетическом

анализаторе ABI3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). Определение размеров SSR-аллелей осуществляли в программе GeneMapper v4.1. Частоты аллелей, показатели разнообразия и индексы генетических различий рассчитаны с помощью пакета программ GeneAIEx (Genetic analysis in Excel, 6.5). UPGMA-дендрограммы сходства по вирулентности и SSR-маркерам построены с помощью пакета программ NTSYSp, Version 2.2.

Все изоляты показали устойчивый тип реакции на линии с геном *Lr24* и восприимчивый на линиях *TcLr11*, *TcLr14a*, *TcLr16*, *TcLr17a*. Варьирование в частотах вирулентности отмечено на линиях *TcLr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr14b*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr26* и *Lr30*. 109 изученных изолятов были представлены 45 фенотипами вирулентности, из них 10 встречались в двух и более регионах. Изоляты из Поволжья были представлены 15 фенотипами, из ЦЧР – 19, из Центрального – 5, Северо-Западного – 19. Согласно индексу Нея (*Nei Genetic Distance*) и показателю межпопуляционной изменчивости *PhiPT* (AMOVA), изоляты из Центрального и Центрально-Черноземного регионов характеризовались высоким межпопуляционным сходством, и умеренно отличались от изолятов с Поволжья и Северо-Запада (табл. 1).

С использованием микросателлитных маркеров выявлено 29 генотипов, из них 14 отмечены в двух и более регионах. Среди волжских изолятов выявлено 18 SSR-генотипов, центральных – 3, центрально-черноземных – 18, северо-западных – 13. Для всех популяций уровень наблюдаемой гетерозиготности (*Ho*) был выше ожидаемой (*He*). Число аллелей на локус (*Na*) варьировало от 1 (локус *SSRPt76*) до 4 (*SSRPt158*, *SSRPt68*); среднее значение (*Na*)

составило 2.1 ± 0.9 . Число эффективных аллелей (N_e) незначительно колебалось между популяциями (от 1.51 до 1.62). Процент полиморфных локусов был выше в волжских популяциях (94%) и незначительно ниже в остальных европейских (ЦЧР – 83%, Ц – 72%, СЗ – 83%). Значения индексов попарных генетических дистанций (H_{eij} и F_{st}) по микросателлитным локусам были значимо ниже,

Таблица 1. Генетические различия по вирулентности

Регион	В	ЦЧР	Ц	СЗ
В	x	0,18	0,12	0,12
ЦЧР	0,17	x	0,11	0,22
Ц	0,12	0,11	x	0,12
СЗ	0,12	0,22	0,12	x

Под диагональю - индекс Нея (*Nei Genetic Distance*),
над диагональю – критерий *PhiPT*

чем по вирулентности (табл.2).

В целом, по результатам микросателлитного анализа подтверждается высокое сходство между региональными европейскими популяциями, что указывает на существование единой популяции гриба на данной территории.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, проект №14-04-00464а.

Таблица 2. Генетические различия по SSR-маркерам

Регион	В	ЦЧР	Ц	СЗ
В	x	0,02	0,03	0,02
ЦЧР	0,01	x	0,05	0
Ц	0,02	0,03	x	0,05
СЗ	0,02	0,01	0,03	x

Под диагональю – индекс Нея (*Nei Genetic Distance*),
над диагональю – критерий *Fst*

Библиографический список (References)

- Гультяева Е.И., Шайдаюк Е.Л., Казарцев И.А., Аристова М.К. Структура российских популяций гриба *Puccinia triticina* Eriks // Вестник защиты растений. 2015. №3(85). С. 5–10.
- Гультяева Е.И., Косман Е., Дмитриев А.П., Баранова О.А. Структура популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и ДНК-маркерам в Северо-Западном регионе РФ в 2007 году // Микология и фитопатология, 2011. Т.45(1). С.70-81.
- Коваленко Е.Д. и др. Современное состояние популяций возбудителя бурой ржавчины и создание генбанка источников и доноров устойчивости пшеницы //Иммуногенетическая защита сельскохозяйственных культур от болезней: теория и практика. Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 125-летию со дня рождения Н.И. Вавилова. Б. Вяземы Московской обл. 17-20 июля 2012 г. С.69-80.

- Михайлова Л.А. Генетика взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы //СПб. ВИЗР, 2006. 80 с.
- Сорокина Г.К. Смирнова Л.А., Лангаева В.К. и др. Использование эффективных *Lr*-генов в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине (Методические рекомендации). ВНИИФ, М., 1990. 31 с.
- Duan X., Enjalbert J., Vautrin D. et al. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina* // Mol. Ecol. Notes. 2003. Vol.3. P. 65–67.
- Justesen A.F., Ridout C. J., Hovmøller M. S. The recent history of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Denmark as revealed by disease incidence and AFLP markers // Plant Pathology. 2002. V. 51. P. 13–23.
- Szabo L. S., Kolmer J.A. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina* // Mol.Ecol. Notes. 2007. №7. P. 708-710.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 56–57

POPULATION STRUCTURE OF *Puccinia triticina* IN THE EUROPEAN REGIONS OF RUSSIA

E.I. Gulyaeva, E.L. Shaydayuk, M.K. Aristova, I.A. Kazartsev

All-Russian Institute of Plant Protection, eigulyaeva@gmail.com

The aim of researches is to characterize the polymorphism of *Puccinia triticina* populations for microsatellite loci in the European regions of the Russia in 2006–2014. The high similarity between the populations from Volga, Central, Central Black Earth and Northwest regions were revealed that confirms the hypothesis about single similar fungus population existence in this territory proposed previously based on the analysis of virulence.

УДК 631.8: 579.64

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ ДИКОРАСТУЩИХ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ ЮЖНОГО УРАЛА В КАЧЕСТВЕ ОСНОВЫ ДЛЯ БИОУДОБРЕНИЙ

Р.С. Гуменко, Е.С. Иванова, Г.М. Саргалиева, Ан.Х. Баймиев

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, r.gumenko@yandex.ru

Азот абсолютно необходим всем живым организмам, однако животные и растения не способны усваивать его из воздуха. Такой способностью обладают азотфиксирующие организмы, прежде всего клубеньковые бактерии – симбионты бобовых растений. Один из методов современного сельского хозяйства – использование биоудобрений на основе полезных микроорганизмов.

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, симбиоз, азотфиксация, биоудобрения.

Азот является абсолютно необходимым элементом для всех живых организмов. Он входит в состав белков, нуклеиновых кислот, многих простых и сложных молекул, составляющих структуры организмов [Мишустин, 1983]. Однако представители растительного и животного мира не способны черпать азот непосредственно из атмосферы воздуха. Такой способностью обладают микроорганизмы

(азотфиксаторы), а процесс связывания азота атмосферы этими организмами и перевод его в доступную для усвоения растениями форму называют биологической азотфиксацией [Игнатов, 1998]. Наибольший вклад в биологическую фиксацию азота вносят симбиозы азотфиксирующих бактерий (ризобий) и бобовых растений. Но в естественных условиях бобовые используют только 10–30% своего

азотфиксирующего потенциала, что приводит к дефициту азота в почве, что в конечном итоге ведет к низкому урожаю сельскохозяйственных культур [Тихонович, 2009].

Долгое время сельское хозяйство решало эту проблему с помощью использования минеральных азотных удобрений, что позволило резко повысить продуктивность основных сельскохозяйственных культур. Но их интенсивное использование привело к проблеме экологизации с/х производства, что в свою очередь побудило страны мира к переходу к экологичному с/х (органическое земледелие), под которым следует понимать производство продукции с помощью максимального использования биологических факторов повышения плодородия, не оказывающих отрицательного воздействия на природу. Одним из приемов современного земледелия является применение препаратов для растениеводства на основе полезных микроорганизмов [Звягинцев, 2005].

С целью изучения возможности использования клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых как основы высокоэффективных биоудобрений впервые было проанализировано около 200 штаммов микросимбионтов, относящихся к родам: *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*. Исследовались микросимбионты таких растений как: горошек заборный (*Vicia sepium* L.), г. лесной (*V. sylvatica* L.), г. гороховидный (*V. pisiformis* L.), г. мышиный (*V. cracca* L.), чина весенняя (*Lathyrus vernus* L. Bernh.), ч. луговая (*L. pratensis* L.), ч. лесная (*L. sylvestris* L.), ч. го-

роховидная (*L. pisiformis* L.), люцерна гибридная (*Medicago varia* Mart.), донник белый (*Melilotus albus* Medik.), донник желтый (*Melilotus officinalis* (L.) Pall.), произрастающих на территории Южного Урала. Апробация данных штаммов была проведена на таких культурах как: горох посевной (*Pisum sativum* L.), вика посевная (*Vicia sativa* L.), люцерна посевная (*Medicago sativa* L.). В качестве контроля использовались штаммы клубеньковых бактерий, входящие в состав коммерческих биопрепаратов, представленных на рынке России. Эффективность штаммов оценивалась по их азотфиксирующей активности. По результатам оценки для некоторых испытуемых штаммов были получены сопоставимые результаты опыта и контроля, а в некоторых случаях нитрогеназная активность клубеньковых бактерий на 5–10% превышала нитрогеназную активность штаммов, входящих в состав коммерческих биоудобрений. Поскольку взятые в анализ микроорганизмы являются аборигенными штаммами для Южного Урала, можно предположить, что они будут более приспособлены к данным почвенно-климатическим условиям. Таким образом, клубеньковые бактерии дикорастущих бобовых растений являются хорошим селекционным материалом для поиска высокоэффективных штаммов ризобий с целью их использования в качестве основы для биоудобрений.

Работа выполнена частично на средства гранта № 3474ГУ1/2014 от 12.09.2014 г. (грант У.М.Н.И.К.).

Библиографический список (References)

- Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы // Соросовский образовательный журнал. – 1998. – № 9. – С. 28–33.
 Звягинцев Д. Г. Биология почв / Д. Г. Звягинцев, И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – М.: изд-во МГУ, 2005–445 с.
 Гусев М.В. Микробиология / М. В. Гусев, Л.А. Минеева. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 448 с.
 Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 57–58
 Мишустин Е.Н. Молекулярные механизмы усвоения азота растениями / Е.Н. Мишустин. – М.: Агропромиздат, 1983. – 264 с.
 Тихонович И.А., Проворов Н.А. Симбиозы растений и микроорганизмов: молекулярная генетика агросистем будущего // СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та. 2009. С. 8.

THE USE OF WILD NODULE BACTERIA OF THE SOUTHERN URALS LEGUMINOUS PLANTS AS A BASIS FOR BIO-FERTILIZERS

R.S. Gumenko, E.S. Ivanova, G.M. Sargaliev, An.K. Baymiev

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, r.gumenko@yandex.ru

Nitrogen is an absolutely essential element for all living organisms. However, representatives of flora and fauna are not able to consume nitrogen directly from the air atmosphere. Microorganisms (nitrogen-fixers) have this ability. The process of binding nitrogen by these organisms and its transfer into an available form for assimilation by plants is called biological nitrogen fixation. The largest contribution to biological nitrogen fixation is made by symbiosis of nitrogen-fixing bacteria (rhizobia) and legumes plants. One of the methods of modern agriculture is the use of biofertilizers based on beneficial microorganisms.

УДК 595.768.24

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ НАЕЗДНИКОВ-ТРИОКСИН (НУМЕНОПТЕРА: АРНИДИДАЕ: ТРИОКСИНАЕ) ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ЗООЛОГИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА РАН

Е.М. Давидьян

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, g davidian@yandex.ru

Были изучены около 3000 экземпляров подсемейства Триоксины с территории бывшего СССР. 67 видов из 9 родов, в том числе были определены *Betuloxys* Mackauer, 1960 (6), *Binodoxys* Mackauer, 1960 (15), *Calaphidius* Mackauer, 1961 (1), *Falciconus* Mackauer, 1959 (2), *Harkeria* Cameron, 1900 (1), *Lipolexis* Foerster 1862 (1), *Monoctonia* Starý, 1962 (2), *Monoctonus* Haliday, 1833 (6) и *Trioxys* Haliday, 1833 (33). 6 видов афидиид были указаны впервые для России, в том

числе *Betuloxys kamijoi* Takada, 1968; *Harkeria angustivalva* (Starý, 1959); *Monoctonia vesicaria* Tremblay, 1991; *Monoctonus leclanti* Tomanovic & Starý, 2002; *M. mali* van Achterberg, 1989; *Trioxys iziphia* Mackauer, 1967.

Ключевые слова: Aphidiidae, Trioxinae.

Настоящее сообщение подготовлено по материалам работы автора в рамках проекта “Ревизия таксономической и генетической структуры биоразнообразия перепончатокрылых насекомых России в целях рационального использования их природного потенциала” (грант РФФИ № 15-29-02466).

Изучено более 3000 экземпляров наездников подсем. Триоксинае. С территории России и сопредельных с ней республик бывшего СССР выявлено 67 видов из 9 родов: *Betuloxys* Mackauer, 1960 (6), *Binodoxys* Mackauer, 1960 (15), *Calaphidius* Mackauer, 1961 (1), *Falciconus* Mackauer, 1959 (2), *Harkeria* Cameron, 1900 (1), *Lipolexis* Foerster, 1862 (1), *Monoctonia* Starý, 1962 (2), *Monoctonus* Haliday, 1833 (6) и *Trioxys* Haliday, 1833 (33). Для сравнения, наиболее полно изученные фауны триоксин Чехии и Словакии [Starý, 2006], а также Японии [Takada, 1966, 1968] примерно в 2 раза меньше. 15 видов фауны России являются западнопалеарктическими; 30 видов встречаются только в азиатской части; 23 вида встречаются по обе стороны Урала.

Обнаружен новый для науки вид и новый род из Амурской области и Приморского края. Еще 2 вида из рода *Binodoxys* выделены как новые для науки. 6 видов наездников, включая *Betuloxys kamijoi* Takada, 1968; *Harkeria angustivalva* (Starý, 1959); *Monoctonia vesicaria* Tremblay, 1991; *Monoctonus leclanti* Tomanovic & Starý, 2002; *M. mali* van Achterberg, 1989; *Trioxys iziphia* Mackauer, 1967 приводятся для России впервые.

Уточнено распространение 20 видов наездников. Для ряда видов получены интересные сведения по пищевой специализации. Например, благодаря полевым исследованиям в Ленинградской области из зараженных тлей *Hormaphis betulae* (Mordvilko) был выведен *Calaphidius elegans* Mackauer, 1961.

К наиболее редким наездникам относятся следующие 26 видов: *Falciconus longiradius* (Takada, 1966); *Monoctonia pistaciecola* Starý, 1962; *Monoctonia vesicaria* Tremblay, 1991; *Harkeria angustivalva* (Starý, 1959); *Betuloxys kamijoi*

(Takada, 1968); *Binodoxys genista* (Mackauer, 1960); *B. tobiasi* Davidian, 2004; *Trioxys annae* Davidian, 2005; *T. artistigma* Takada, 1966; *T. asya* Davidian, 2005; *T. belokobylskij* Davidian, 2005; *T. bicuspis* Mackauer, 1960; *T. galiobii* Starý, 1974; *T. glaber* Starý, 1967; *T. hokkaidensis* Takada, 1968; *T. humuli* Mackauer, 1960; *T. inulaecola* Starý et Remaudiere, 1987; *T. iziphia* Mackauer, 1967; *T. khasanicus* Davidian, 2005; *T. longicaudi* Starý, 1978; *T. lambersi* Mackauer, 1960; *T. liui* Chou et Chou, 1993; *T. microceratus* Mackauer, 1968; *T. parauctus* Starý, 1960; *T. tamarae* Davidian, 2005; *T. udalovi* Davidian, 2005.

В последние годы получены интересные сборы наездников из ряда зарубежных стран. Из них определены и поставлены в коллекцию ЗИН РАН 13 видов из 6 родов, ранее отсутствовавшие в отечественных коллекционных фондах: *Acanthocaudus tissoti* Smith, 1944 (США, штат Техас); *A. caudacanthus* Smith, 1944 (США, штат Техас); *Binodoxys communis* Gahan, 1926 (Япония); *Cristicaudus bicolor* Starý et Remaudiere, 1982 (Мексика); *Lipolexis oregma* (Gahan, 1932) (Япония, Таиланд); *Monoctonus caricis* (Haliday, 1833) (Великобритания); *Trioxys ademuzi* Michelena et Sanchis, 1994 (Франция, Казахстан); *T. cirsi* (Curtis, 1831) (Великобритания); *T. macroceratus* Starý, 1960 (Великобритания); *T. moshei* Mesheloff et Rosen, 1990 (Чехия); *T. pappi* Takada, 1979 (Иран); *T. rokkoensis* Davidian, 2005 (Япония); *T. shivaphis* Takada, 1966 (Япония).

Изучение наездников триоксин из сем. Aphidiidae имеет важное значение для биологического контроля тлей – вредителей сельскохозяйственных, технических и декоративных растений. *Lipolexis gracilis* Förster, 1862 успешно применяется для борьбы с *Toxoptera aurantii* и *Aphis gossypii* на цитрусовых, *A. craccivora* на бобах, *Lipaphis erysimi* на горчице и *Rhopalosiphum padi* на кукурузе; *Trioxys auctus* (Haliday, 1833) – против *A. gossypii* на хлопке; *T. indicus* Subba Rao et Sharma, 1959 – против *Aphis gossypii* и *A. craccivora* на хлопке и люцерне; *T. communis* Takada 1966 – против *A. glycines* на сое и *A. gossypii* на хлопке [Wei, Bai et Yin, 2005].

Библиографический список (References)

- Starý P. Aphid parasitoids of the Czech Republic (Hymenoptera: Braconidae, Aphidiinae). Praha: Academia. 2006. 430 p.
- Takada H. A preliminary revision of species of *Trioxys* Haliday occurring in Japan, with description of eight new species (Hymenoptera: Aphidiidae) // Ins. Mats. 1966. Vol. 29. N. 1. P. 23–42.
- Takada H. Aphidiidae of Japan (Hymenoptera) // Ins. Mats. 1968. Vol. 30. N. 2. P. 67–124.
- Wei J. N., Bai B. B., Yin T. S. et al. Development and use of parasitoids (Hymenoptera: Aphidiidae & Aphelinidae) for biological control of aphids in China // Biocontrol Science and Technology. 2005. 15(6): 533–551.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 58–59

PRELIMINARY RESULTS OF THE STUDY OF APHIDIINES OF SUBFAMILY TRIOXINAE (HYMENOPTERA: APHIDIIDAE) FROM THE COLLECTION OF THE ZOOLOGICAL INSTITUTE RAS

E.M. Davidian

All-Russian Institute of Plant Protection, gdavidian@yandex.ru

About 3000 specimens of subfamily Trioxinae were studied from the territory of the former USSR. 67 species from 9 genera, including *Betuloxys* Mackauer, 1960 (6), *Binodoxys* Mackauer, 1960 (15), *Calaphidius* Mackauer, 1961 (1), *Falciconus* Mackauer, 1959 (2), *Harkeria* Cameron, 1900 (1), *Lipolexis* Foerster, 1862 (1), *Monoctonia* Starý, 1962 (2), *Monoctonus* Haliday, 1833 (6) and *Trioxys* Haliday, 1833 (33) were determined. 6 species aphidiines, including *Betuloxys kamijoi* Takada, 1968; *Harkeria angustivalva* (Starý, 1959); *Monoctonia vesicaria* Tremblay, 1991; *Monoctonus leclanti* Tomanovic & Starý, 2002; *M. mali* van Achterberg, 1989; *Trioxys iziphia* Mackauer, 1967 were indicated for the first time for Russia.

УДК 579.64

БИОСИНТЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ**А.А. Далинова, Н.С. Волосатова, А.О. Берестецкий***Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, azhukomi@mail.ru*

Вторичные метаболиты грибов являются важным источником новых биологически активных веществ. Наиболее простой и эффективный подход к их поиску заключается в вариации легко изменяемых параметров культивирования грибов для получения множества соединений из одного штамма. К таким параметрам относятся способ культивирования, вид и соотношение источников углерода и азота, наличие микроэлементов и витаминов, рН питательной среды, условия аэрации и др.

Ключевые слова: вторичные метаболиты, параметры культивирования, микромицеты.

Вторичные метаболиты грибов являются одним из основных источников новых биологически активных соединений – антибиотиков, фитотоксинов, противоопухолевых, противовирусных, фунгицидных веществ и др.

Классический подход к поиску новых биологически соединений заключается в культивировании целевого микроорганизма на стандартных питательных средах, анализе культуральных фильтратов, экстракции и последующем выделении соединений хроматографическими методами. Используя этот подход и стандартные методики оценки биологической активности можно получить из каждого штамма исследуемого микроорганизма в лучшем случае 1–2 соединения с интересующим типом активности. Однако секвенирование геномов хорошо изученных микроорганизмов предсказывает гораздо больший синтетический потенциал, включающий в себя синтез как поликетидов и нерибосомальных пептидов, так и органических соединений других классов. Такие «молчащие» пути вторичного метаболизма представляют собой значительный интерес для поиска новых биологически активных веществ [Bode, 2002, Tudzinsky, 2014].

Вторичный метаболизм грибов контролируется с помощью комплекса регуляторных белков, которые отвечают различным стимулам окружающей среды. К таким стимулам относятся источники углерода и азота в питательной среде, температура, условия освещения, рН, наличие в среде необходимых аминокислот, активных формы кислорода, условия аэрации, образование биопленок и доступность микроэлементов, а также химические стимулы от других организмов [Craney, 2013]. Наиболее простой и эффективный подход к поиску новых биологически активных веществ заключается в вариации легко изменяемых параметров культивирования для получения множества соединений из одного штамма микроорганизма [Brakhage et al., 2012].

Для грибов рода *Aspergillus* изучено влияние источников углерода и азота на продукцию афлатоксина и стеригматоцистина. Биосинтез этих микотоксинов осуществляется по одной схеме, но в пути биосинтеза стеригматоцистина отсутствуют последние несколько шагов. Афлатоксины образуют грибы *A. flavus* и *A. parasiticus*, а стеригматоцистин – *A. nidulans*. Было показано, что простые сахара в качестве единственного источника углерода в среде стимулируют образование афлатоксинов, в то время как пептон и другие более сложные углеводы не поддерживают их биосинтез [Buchanan, Stahl 1984]. Вид источника азота оказывает различное влияние на продукцию афлатоксина и стеригматоцистина у различных грибов рода *Aspergillus*. Было показано, что присутствие

нитрата в качестве единственного источника азота в среде подавляет синтез предшественников афлатоксина у *A. parasiticus*, но увеличивает выход стеригматоцистина у *A. nidulans* [Calvo et. al., 2002]. Feng и Leonard [1998] пришли к выводу, что несмотря на схожие пути биосинтеза, образование этих микотоксинов регулируется различными механизмами.

В работе Paranagama с соавторами [2007] было показано, что гриб *Paraphaeosphaeria quadrisepata* образует различные мажорные метаболиты при культивировании на питательных средах, приготовленных на основе дистиллированной и водопроводной воды. Было установлено, что высокое содержание ионов Cu^{2+} , Cd^{2+} и Cr^{3+} стимулирует образование моноциллина I в культуре *P. quadrisepata*.

В работе Zhang с соавторами [2013] было оценено влияние способа культивирования на продукцию основных метаболитов *Monascus purpureus* – азафилонов и цитринина – при культивировании на рисовой среде. Содержание микотоксина цитринина в экстрактах из твердофазной культуры гриба было ниже, чем в экстрактах из жидкофазной культуры, в то же время на продукцию азафилонов способ культивирования не оказывал существенного влияния.

В лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ВИЗР мы оценили биосинтетический потенциал фитопатогенного гриба *Alternaria sonchi* при культивировании на различных твердых и жидких питательных средах. В качестве жидких питательных сред были использованы среда Чапека с добавлением витаминов, среды ДМГ и YES. Твердофазное культивирование проводили на перловой, рисовой и пшеничной крупах. Анализ метаболитных профилей, полученных методом ВЭЖХ, показал, что состав экстрактов значительно различался в зависимости от способа культивирования. Состав жидких питательных сред оказал большее влияние на метаболитные профили экстрактов *A. sonchi*, чем вид твердого субстрата; в экстрактах из жидкофазных культур гриба наблюдались качественные различия в составе метаболитных комплексов.

К другим способам повышения биосинтетической активности микроорганизмов можно отнести: методы генетической инженерии (гиперэкспрессия транскрипционных факторов и регуляторов, получение мутантных штаммов), методы эпигенетики (модификация хроматина), ингибирование различных ферментов, со-культивирование с микроорганизмами других видов.

Используя перечисленные подходы, можно получить расширенный набор соединений из одного штамма гриба за счет активации различных путей биосинтеза вторичных метаболитов.

Библиографический список (References)

- Brakhage A.A. Regulation of fungal secondary metabolism // *Nature Reviews Microbiology*. – 2013. – V. 11(1). – P.21–32.
- Buchanan R.L., Stahl H.G. Ability of various carbon sources to induce and support aflatoxin synthesis by *Aspergillus parasiticus* // *Journal of Food Safety*. – 1984. – V. 6(4), No 11. – P. 271–279.
- Calvo A.M., Wilson R.A., Bok J.W., Keller N.P. Relationship between Secondary Metabolism and Fungal Development // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2002. – V. 66, N 3. – P. 447–459.
- Craney A., Ahmed S., Nodwell J. Towards a new science of secondary metabolism // *The Journal of Antibiotics*. – 2013. – P. 1–14.
- Feng G.H., Leonard T.G. Culture Conditions Control Expression of the Genes for Aflatoxin and Sterigmatocystin Biosynthesis in *Aspergillus parasiticus* and *A. nidulans* // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1998. – V. 64, No. 6. – P. 2275–2277.
- Paranagama P.A., Wijeratne K. E.M., Gunatilaka A.A. L. Uncovering Biosynthetic Potential of Plant-Associated Fungi: Effect of Culture Conditions on Metabolite Production by *Paraphaeosphaeria quadrisepata* and *Chaetomium chiwersii* // *J. Nat. Prod.* – 2007. – V. 70. – P. 1939–1945.
- Zhang L., Li Z., Dai B., Zhang W., Yuan Y. Effect of submerged and solid-state fermentation on pigment and citrinin production by *Monascus purpureus* // *Acta Biologica Hungarica*. – 2013. – V. 64(3). P. 385–394.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 60–61

BIOSYNTHETIC POTENTIAL OF FILAMENTOUS FUNGI

A.A. Dalinova, N.S. Volosatova, A.O. Berestetskiy

All-Russian Institute of Plant Protection, azhukomi@mail.ru

Fungal secondary metabolites are an important source of new bioactive compounds with different types of biological activity – antibiotics, phytotoxins, cytotoxic agents. The most effective method for isolation of new bioactive compounds is variation of cultivation parameters, such as cultivation mode, media composition, carbon and nitrogen source, pH, aeration etc.

УДК 632.937

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С ВРЕДНЫМИ НАСЕКОМЫМИ В ОРГАНИЧЕСКОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ

С.А. Доброхотов, А.И. Анисимов

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия, dobrohotiov-s@mail.ru

В течение 2010–2015 гг. изучали эффективность биопрепаратов, некоторые из которых не имеют государственной регистрации, в борьбе с вредными насекомыми на сельскохозяйственных культурах, выращиваемых по технологиям органического земледелия в условиях Северо-Западной зоны России. Исследования проводили в учебно-опытном саду СПбГАУ, в ЛПХ и садоводческих участках Ленинградской области. Оценена биологическая эффективность микробиологических препаратов Битоксибациллин, Лепидоцид, Немабакт, Метаризин, Бацикол, а также биохимического препарата – Фитоверм в отношении основных вредителей на овощных культурах и картофеля. В сочетании с агротехническими мероприятиями удавалось полностью защищать овощные культуры и картофель от вредных организмов, получать высокие урожаи экологической продукции. Необходимо включить изученные препараты в план государственных регистрационных испытаний, расширить спектр их применения на практике.

Ключевые слова: Северо-Запад России, Ленинградская область, овощные культуры, картофель, земляника, вредные насекомые, микробиопрепараты, биологическая эффективность.

В разработанном в 2015 году Государственном стандарте на органическую продукцию приведены средства защиты растений, не имеющие российского происхождения, во многих случаях малоэффективные в борьбе с вредными насекомыми. Также большинство российских биопрепаратов не имеет регистрации против многих вредных насекомых на овощных культурах и картофеле, землянике.

Опытные образцы бацикола, на основе *Bacillus thuringiensis* Berliner штамм Н 10, нарабатываемого во ВНИИСХМ, изучали в борьбе с крестоцветными блошками (род *Phyllotreta*) на белокочанной капусте, горчице белой, рапсе, редьке масличной, также на картофеле против колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Препарат испытывали и на землянике садовой в отношении малинно-земляничного долгоносика (*Anthonomus rubi* Herbst), а также на моркови против морковной листоблошки (*Trioza apicalis* Foerst).

Эффективность немабакта, созданного на основе энтомопатогенной нематоды *Steinernema carpocapsae* Weiser, состоящей в симбиозе с бактерией (Eubacteriactae), изучали на белокочанной капусте в борьбе с капустными мухами (*Delia brassicae* Bouche и *Delia floralis* Fallen), проволочниками (личинки жуков–щелкунов семейства Elateridae).

В борьбе с проволочниками применяли и опытный образец грибного препарата на основе *Metarhizium anisopliae* Metchn., штамм МАК-1. В 2015 году метаризин официально зарегистрирован на картофеле для использования против проволочников. Лепидоцид, битоксибациллин применяли в борьбе с листогрызущими чешуекрылыми вредителями капусты – капустная моль (*Plutella xylostella* L.), капустная (*Pieris brassicae* L.) и репная (*Pieris rapae* L.) белянки. Фитоверм использовали для снижения численности свекловичной минирующей мухи (*Pegomya hyoscyami* Panz.) на столовой свёкле и морковной листоблошки на моркови, против крестоцветных блошек на капусте.

Наибольшая эффективность Бацикола и Битоксибацилина наблюдалась в отношении личинок 1-го возраста колорадского жука. Биологическая эффективность достигала 100%, была сравнима с химическим препаратом Арриво [Максименко и др., 2012]. Немабакт – аналог препарата Энтонем – F, оказался достаточно эффективным в борьбе с проволочниками, если обрабатывать дно борозды при посадке клубней и проливать почву в период бутонизации картофеля. За счёт 2-х кратной обработки удавалось снизить процент повреждённых клубней, определяемых во время уборки урожая, до 5%. По ГОСТу такой картофель

можно реализовывать в торговой сети. Изучены 3 способа использования метаризина (обработка клубней, дна борозды, всей площади). Биологическая эффективность была сравнима с немабактом. Использование горчицы белой (запашка взрослых растений до 5–10 сентября), совместно с внесением немабака и метаризина в почву значительно повышает эффективность препаратов в борьбе с проволочниками [Доброхотов и др., 2014].

Наиболее тяжело происходит борьба с взрослыми фазами жуков (крестоцветные блошки, малинно-земляничный долгоносик). В борьбе с долгоносиком эффективность жидкой формы бацикола (20 л/га) на садовой землянике достигала 60%, что обеспечивало получение высокой окупаемости обработок, если их проводили с интервалом не менее 1 недели (2–3 обработки) в фазу бутонизации-цветения.

Еще сложнее бороться с крестоцветными блошками, которые сильно вредят при выращивании капусты по органической технологии. В учебно-опытном саду СПбГАУ в 2011–12 гг. крестоцветные блошки полностью уничтожили б/к капусту первого срока высадки. Только после естественного спада численности рассада 2-го срока посадки успешно приживалась. Соответственно и урожайность капусты была не высокой. В 2013–2015 годах защиту белокочанной капусты осуществляли с помощью бацикола, проведя в 13 году одну обработку, в 14 году – 2 обработки, в 2015 году – 3 опрыскивания. Причём при второй обработке в 2015 году в Бацикол добавили биохимический препарат Фитоверм (1:10). Высокая биологическая эффективность отмечена на сорте СБ-3, на сортах Престиж и Подарок была низкой. Подсадка капусты во всех вариантах опыта позво-

лила сохранить исходное количество растений и получить высокую урожайность. На сорте СБ-3 около 1000 ц/га. Против капустной моли высокую эффективность обеспечивало однократное опрыскивание (1% концентрация) лепидоцидом или битоксибациллином. В АО Ленинградской области «Шушарь», «Детскосельский» и др. против моли проводят многократные обработки. Наиболее сильно повреждается цветная капуста.

Против морковной листоблошки можно успешно заменять фитоверм при 2-х кратной обработке в концентрации 0.8% (3.2–4 л/га). Биологическая эффективность (БЭ) составила 70–80%. В борьбе со вторым поколением свекловичной минирующей мухи опрыскивание столовой свёклы фитовермом в 0.8–1% концентрации обеспечивало БЭ около 60%. Однако против первого поколения такая обработка может оказаться малоэффективной, хотя другого выбора в органическом земледелии нет. В странах ЕС в органическом земледелии разрешается применять аналог фитоверма – спиносад. В России он зарегистрирован только в борьбе с колорадским жуком и западным цветочным трипсом.

На основании проведённых в течение 6 лет исследований можем констатировать, что имеющийся спектр зарегистрированных препаратов не позволяет обеспечить защиту сельскохозяйственных культур от всех вредных насекомых, встречающихся на полях органического земледелия. Необходимо включение изученных нами препаратов в план государственных регистрационных испытаний. В этом должны быть заинтересованы производители препаратов и фермеры, желающие переходить на органический путь развития сельского хозяйства.

Библиографический список (References)

Максименко, Р.О., Доброхотов С.А., Анисимов А.И. Защита картофеля от колорадского жука и проволочников без применения пестицидов // Вестник студенческого научного общества. СПб.: СПбГАУ, 2012. – С. 58–62.

Доброхотов С.А., Анисимов А.И., Данилов Л.Г., Леднёв Г.Р. Разработка мер борьбы с проволочниками на картофеле с использованием микробиологических препаратов и горчицы белой. Вестник защиты растений. Санкт-Петербург-Пушкин, 2014. – С.25–33.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 61–62

THE USE OF MICROBIOLOGICAL PREPARATIONS FOR INSECT PEST CONTROL IN ORGANIC AGRICULTURE

S.A. Dobrohotov, A.I. Anisimov

Saint Petersburg State Agrarian University, dobrohotiov-s@mail.ru

During 2010–2015 the efficacy of microbiological preparations, some of which do not have state registration, were investigated to control harmful insect pests in the agricultural crops grown by organic farming techniques in the North-West zone of Russia. Investigations were carried out in the educational-experimental SPbSAU garden, private farms and country cottage areas of the Leningrad region. Assess the biological effectiveness of microbiological preparations Bitoksibacillin, Lepidocide, Nemabakt, Metarizin, Baticol and biochemical drug – Fitoverm against major pests in vegetable, berry crops and potatoes. In combination with agro-technical measures it is possible to protect such crops from harmful organisms completely, to obtain high yields of green products. It's necessary to include the study of mentioned above microbiological preparations in the state registration trials plan to expand the range of their application in practice.

УДК 632.937

ЗАЩИТА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ОТ БОЛЕЗНЕЙ В ОРГАНИЧЕСКОМ ЗЕМЛЕДЕЛИИ

С.А. Доброхотов, Н.В. Чернявина, А.И. Анисимов

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия, dobrohotiov-s@mail.ru

Защита сельскохозяйственных культур, в частности зерновых, от болезней на участке органического земледелия СПбГАУ ведется в соответствии с национальным стандартом по производству органической продукции [2015]. Проводится выявление более устойчивых сортов, оптимального севооборота, эффективных биопрепаратов. Так, в 2015 году в борьбе против сетчатой пятнистости ячменя, сильно поражающей эту культуру в полевых условиях Северо-

Запада России, установлена высокая биологическая эффективность биопрепаратов (Фитоспорин, Восток ЭМ-1, Биосил). Достаточное снижение развития пыльной головки овса (на 86%) обеспечил лишь фитоспорин, ПС. Другие испытанные биопрепараты (Экстрасол, Восток ЭМ-1, Биосил) и химический эталон – Дивиденд Стар, оказались практически не эффективными.

Ключевые слова: Северо-Запад России, ячмень, овёс, сетчатая пятнистость, пыльная головня, биопрепараты, биологическая эффективность.

Согласно национального стандарта, утверждённого агентством по техническому регулированию РФ в 2015 году, по производству органической продукции основным способом борьбы с болезнями считается использование устойчивых сортов, севооборот, применение биопрепаратов. Однако перечень биологических средств защиты растений, разрешённых для применения на зерновых культурах в борьбе с болезнями в Государственном каталоге агрохимикатов и пестицидов [2015] не велик, а против пыльной головки отсутствует.

Семена со степенью заражения внешней инфекцией более 30% необходимо обрабатывать (протравливать) только химическими фунгицидами, что входит в противоречие с регламентами, ГОСТами по органическому сельскому хозяйству. Высев непротравленных семян в России запрещён. Возбудители инфекционных заболеваний растений могут переноситься воздушным способом на большие расстояния [Тарр, 1973].

В качестве эталонов использовали химические протравители семян – Дивиденд Стар и Селест Топ. Последний лишь недавно появился на рынке России. Препарат имеет в своём составе 3 действующих вещества, одно из которых инсектицид тиаметоксам, относящийся к неоникотиноидам. Последним решением Совета ЕС неоникотиноиды запрещены к применению в странах европейского содружества сроком на 2 года, начиная с 2016 г.

Учёт развития сетчатой пятнистости (*Pyrenophora teres* Drechs.) делали по методике, используемой при проведении оценки фунгицидов в регистрационных испытаниях, по 6-ти балльной шкале [Долженко и др., 2009]. Пыль-

ную головню овса, вызываемую грибом *Ustilago avenae* (Pers.) Rostr., обнаруженную на участке органического земледелия, занесли с семенами, приобретёнными в ООО «Нестор». Процент головки определяли в каждом варианте, площадью 10 кв. м, делая абсолютный подсчёт поражённых стеблей. Биологическую эффективность (БЭ) обработки семян в опытных вариантах рассчитывали, сравнивая процент развития болезни, поражения стеблей относительно контрольного варианта.

Показано (табл.), что препараты биологического происхождения Фитоспорин и Восток ЭМ-1 при обработке семян обеспечили самую высокую биологическую эффективность в отношении сдерживания развитие сетчатой пятнистости ячменя, так же как и препарат растительного происхождения – Биосил (нарабатывается их хвои пихты). Эффективность химического протравителя Дивиденд Стар была значительно меньше, даже по сравнению с микробиологическим препаратом Экстрасол ($p < 0.01$), показавшем наименьшую эффективность из всех испытанных биологических препаратов. Химический протравитель Селест Топ эффективности совсем не показал.

Полное развитие пыльной головки овса в 2015 году проявилось в конце июля, хотя первые признаки стали отмечать в начале июля. Как видно из таблицы, лишь Фитоспорин обеспечил достаточно высокую эффективную защиту овса от пыльной головки. Биологическая эффективность, рассчитанная по снижению поражённости растений относительно контрольного варианта, составила 86.2%. Необходимы дальнейшие исследования по нехимическим способам борьбы с пыльной головнёй.

Таблица. Средняя поражённость ячменя сорта Владимир сетчатой пятнистостью и овса сорта Скакун пыльной головней после обработки семян микробиологическими препаратами и их БЭ (учебно-опытный сад СПбГАУ, 2015 г.)

Препарат	Сетчатая пятнистость ячменя			БЭ, % ± SE	Пыльная головня овса	
	Поражённость по ярусам (% ± SE)				поражённость, % ± SE	БЭ, %
	2-ой	3-ий	4-ый			
Селест -Топ, КС 1.5 кг/т	55.0 ± 3.26 a	30.5 ± 2.54 cd	11.5 ± 1.33 g	нет	не испытывали	–
Дивиденд Стар, КС 1.0 кг/т	39.0 ± 3.32 bc	21.3 ± 2.24 ef	4.5 ± 0.62 ijk	15.8 ± 1.16 p	3.26 ± 0.69 г	8.75
Экстрасол, Ж 1 л/т	33.5 ± 3.83 cd	17.3 ± 2.19 f	2.9 ± 0.45 k	34.8 ± 4.43 o	3.39 ± 0.66 г	5.03
Восток ЭМ 1, Ж 1 л/т	10.9 ± 1.73 gh	6.6 ± 1.73 hij	1.30 ± 0.319 m	75.3 ± 0.70 n	2.85 ± 0.60 г	20.1
Биосил, ВЭ, 50 г/т	6.7 ± 1.08 hi	4.3 ± 0.89 ijk	1.43 ± 0.306 m	80.4 ± 4.12 n	3.57 ± 0.75 г	нет
Фитоспорин, ПС, 1 кг/т	5.4 ± 0.63 i	3.5 ± 0.53 jk	1.37 ± 0.313 m	82.8 ± 4.65 n	0.49 ± 0.27 q	86.2
Контроль	46.7 ± 3.91 ab	25.8 ± 2.56 de	5.2 ± 0.68 ij	0	3.57 ± 0.70 г	0

Примечания: SE (standard error) – стандартная ошибка среднего; одинаковыми буквами обозначены статистически не различающиеся значения для данной болезни ($p > 0.05$ по критерию Стьюдента)

Библиографический список (References)

Национальный стандарт Российской Федерации (ГОСТ Р 56508–2015) Продукция органического производства. Правила производства, хранения, транспортировки. – М., Стандартинформ, 2015. – 71 с.
Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории РФ. – М., 2015. – 735 с.

Долженко В.И. (ред.) и др. Методические указания по регистрационным испытаниям фунгицидов в сельском хозяйстве. СПб, 2009. – 378 с.
Тарр С. Основы патологии растений (пер. с англ. Л.М. Дудин, Н.Л. Клячко). Изд. «Мир». – М. 1973. – 587 с.

THE PROTECTION OF CEREAL CROPS FROM DISEASES IN ORGANIC AGRICULTURE

S.A. Dobrohotov, N.V. Chernyavina, A.I. Anisimov

Saint Petersburg State Agrarian University, dobrohotiov-s@mail.ru

Protecting crops, particularly cereals, from disease at the territory of organic farming in the SPbSAU conducted in accordance with the national standard for the production of organic products [2015]. We try to detect more productive resistant to diseases varieties, the optimal variants for crops rotation, efficient microbiological preparations. So, in 2015, against net blotch of barley, that greatly affecting the crop in the field of North-West Russia, the high biological effectiveness of some microbiological preparations (Fitosporin, Vostok EM-1, Biosil) were shown. Sufficient reduction of oats demerges by semiloose smut (86%) was provided only by Fitosporin. 3 other microbiological preparations which were tested (Ekstrasol, East EM-1, Biosil) and the reference chemical fungicide – Dividend Star, practically were not effective.

УДК 577.29

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ В ОБЛАСТИ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

В.В. Долгих¹, И.В. Сендерский¹, С.А. Тимофеев¹, А.А. Царев¹, Г.В. Митина¹, Е.А. Рогожин²¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, dollslav@yahoo.com²Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия

В работе обсуждаются первые результаты исследований, проводимых в лаборатории микробиологической защиты растений ВИЗР с использованием методов молекулярной и клеточной биологии по трем направлениям: (1) гетерологичная экспрессия белков в клетках насекомых линии Sf9 для изучения внутриклеточных энтомопатогенов; (2) получение рекомбинантных одноцепочечных антител с использованием технологии фагового дисплея для изучения и диагностики различных энтомо- и фитопатогенов, (3) повышение вирулентности природных изолятов энтомопатогенных грибов с использованием пост-геномных и генно-инженерных подходов.

Ключевые слова: клетки насекомых, микроспоридии, энтомопатогенные грибы, одноцепочечные антитела, гетерологичная экспрессия.

Современные методы генной инженерии, молекулярной и клеточной биологии традиционно широко используются в области фундаментальных биологических, а также медико-биологических исследований. В последнее время они начинают находить свое применение и в области сельскохозяйственной науки, включая исследования в области защиты растений. Мы кратко рассмотрим некоторые результаты использования этих методов в исследованиях, проводимых в лаборатории микробиологической защиты растений ВИЗР.

Первое направление исследований связано с гетерологичной экспрессией белков в клетках насекомых линии Sf9 кукурузной листовой совки *Spodoptera frugiperda* [Vaughn et al., 1977] для изучения внутриклеточных энтомопатогенов. Ранее мы показали, что энтомопатогенные микроспоридии (близкие к грибам внутриклеточные паразиты) секретируют в зараженную клетку белки, относящиеся к различным функциональным категориям [Долгих и др., 2010]. Наиболее интересным результатом иммунолокализации секретируемых белков микроспоридии *Paranosema locustae* в зараженных клетках жирового тела перелетной саранчи оказалось специфичное накопление гексокиназы II паразита в ядрах хозяина [Senderskiy et al., 2014]. Для дальнейшего изучения этого вопроса мы осуществили гетерологичную экспрессию гексокиназы *P. locustae* в клетках линии Sf9. С целью обеспечения синтеза гетерологичного белка в цитоплазме клеток насекомых, из состава гексокиназы был удален сигнальный пептид, ответственный за ее секрецию. Проведенный эксперимент ясно показал, что гетерологичная экспрессия белка паразита

сопровождалась его специфичным накоплением в ядрах клеток Sf9, что подтверждает важную роль гексокиназы микроспоридий в воздействии на транскрипционную активность генов хозяина. В дальнейшем мы планируем использовать данную модель для выяснения роли других белков, выделяемых микроспоридиями, в патогенезе зараженной клетки и насекомого в целом, а также для гетерологичной экспрессии различных целевых функционально активных полипептидов.

Второе направление исследований связано с созданием библиотек рекомбинантных одноцепочечных антител (scFv-антител) на основе переменных фрагментов иммуноглобулинов мышей [Huston et al., 1988], иммунизированных определенным антигеном. Отбор антител, специфичных к данному антигену, из сконструированных библиотек осуществляется с использованием технологии фагового дисплея [Breitling et al., 1991]. К настоящему времени нами получены рекомбинантные scFv-антитела против: (1) глютенин-гидролизующей протеиназы клопа вредная черепашка *Eurygaster integriceps*, (2) белка оболочки одного из штаммов вируса картофеля Y, (3) одного из белков микроспоридии *P. locustae*, секретируемых паразитом в цитоплазму зараженной клетки. Наряду с поиском новых антител, в настоящее время осуществляется генно-инженерная модификация уже полученных с целью повышения их антиген-связывающей способности и стабильности.

Третье направление исследований связано с использованием генно-инженерных подходов для повышения вирулентности природных штаммов энтомопатогенных

грибов и проводится совместно с сотрудниками ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. На основании последовательностей двух токсинов-блокаторов ионных каналов насекомых из яда пауков созданы конструкции для их встраивания в геном энтомопатогенных грибов родов *Beauveria*, *Metarhizium*, *Lecanicillium* и последую-

щей гетерологической экспрессии в секретируемой форме под контролем сильных промоторов. В настоящее время подбираются условия для эффективной трансформации различных штаммов грибов созданными конструкциями.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (№№ 15-04-04968, 15-08-04247, 16-34-60217).

Библиографический список (References)

Долгих ВВ, Павлова ОА, Сендерский ИВ, Пэн Г. 2010. Секреторные белки микроспоридии *Paranosema locustae* и их участие в патогенном воздействии на организм перелетной саранчи *Locusta migratoria*. Вестник Защиты Растений. N1: 48–51.

Breitling, F., Dübel, S., Seehaus, T., Klewinghaus, I. and Little, M. 1991. A surface expression vector for antibody screening. *Gene* 104, 147–53.

Huston, J. S.; Levinson, D.; Mudgett-Hunter, M.; Tai, M. S.; Novotný, J.; Margolies, M. N.; Crea, R. (1988). "Protein engineering of antibody binding sites: recovery of specific activity in an anti-digoxin single-chain

Fv analogue produced in *Escherichia coli*". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85 (16): 5879–5883.

Senderskiy IV, Timofeev SA, Seliverstova EV, Pavlova OA, Dolgikh VV. 2014. Secretion of *Antonospora (Paranosema) locustae* proteins into infected cells suggests an active role of microsporidia in the control of host programs and metabolic processes. *PLoS One*. 9(4):e93585. doi: 10.1371/journal.pone.0093585

Vaughn JL, Goodwin RH, Tompkins GJ, McCawley P (1977). "The establishment of two cell lines from the insect *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera; Noctuidae)". *In Vitro* 13 (4): 213–217.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 64–65

APPLICATION OF MOLECULAR AND CELL BIOLOGY APPROACHES IN THE FIELD OF PLANT PROTECTION

V.V. Dolgikh¹, I.V. Senderskiy¹, S.A. Timofeev¹, A.A. Tsarev¹, G.V. Mitina¹, E.A. Rogozhin²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, dol1slav@yahoo.com

²Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS

The paper discusses the first results of the experiments carried out in the laboratory of microbiological control of All-Russian Institute of Plant Protection that use methods of molecular and cell biology in three areas: (1) the expression of heterologous proteins in Sf9 insect cell line to study the intracellular entomopathogens; (2) construction and selection scFv-antibodies using phage display technology for the study and diagnostic of entomo- and phytopathogens; (3) increasing the virulence of natural isolates of entomopathogenic fungi using post-genomic and genetic engineering approaches.

УДК: 631.524.86:632.4:633.1: 577.21

ДНК-АНАЛИЗ СОРТОВ ОЗИМОГО И ЯРОВОГО ТРИТИКАЛЕ, РАЙОНИРОВАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ, НА НАЛИЧИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ, СТЕБЛЕВОЙ И ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЕ

Т.В. Долматович, А.А. Булойчик

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, T.Dolmatovich@igc.bas-net.by

С помощью ДНК-маркеров проведен анализ сортов озимого и ярового тритикале, внесенных в Государственный реестр сортов Республики Беларусь, на наличие генов устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчине пшеницы. Проанализированы маркеры, сцепленные с генами устойчивости: Lr1, Lr9, Lr10, Lr19/Sr25, Lr20/Sr15/Pm1, Lr21, Lr24/Sr24, Lr25/Pm7, Lr26/Yr9/Sr31/Pm8, Lr28, Lr34/Yr18/Pm38, Lr35/Sr39, Lr37/Sr38/Yr17, Lr47, Sr2, Sr22, Sr26, Sr36, Sr40, Sr44, Sr45, Sr50 и Sr1RS^{Amigo}, Yr5, Yr10 и Yr26. Показано, что в районированных в Республике Беларусь сортах озимого и ярового тритикале присутствуют гены устойчивости Lr25/Pm7, Lr26/Yr9/Sr31/Pm8, Sr2, Yr5 и Yr10. Выделенные сорта тритикале могут служить источниками эффективных генов устойчивости к возбудителям бурой, стеблевой и желтой ржавчины.

Ключевые слова: молекулярные маркеры.

Использование генетически устойчивых сортов является наиболее экономически и экологически эффективным методом контроля болезней, позволяющим снизить или элиминировать применение фунгицидов и свести к минимуму потери урожая от заболеваний. Тритикале поражаются физиологическими формами ржавчинных заболеваний пшеницы: бурой (*Puccinia tritricina* f.sp.*tritici* Erikss.), стеблевой (*P. graminis* f. *tritici* Erikss. and Henning) и желтой (*P. striiformis* f. *tritici* Erikss.) ржавчины.

Целью нашей работы являлось проведение ДНК-анализа сортов озимого и ярового тритикале, внесенных в Государственный реестр сортов Республики Беларусь,

на присутствие генов устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчине пшеницы.

В работе использовано 42 молекулярных маркера, сцепленных с генами устойчивости: Lr1, Lr9, Lr10, Lr19/Sr25, Lr20/Sr15/Pm1, Lr21, Lr24/Sr24, Lr25/Pm7, Lr26/Yr9/Sr31/Pm8, Lr28, Lr34/Yr18/Pm38, Lr35/Sr39, Lr37/Sr38/Yr17, Lr47, Sr2, Sr22, Sr26, Sr36, Sr40, Sr44, Sr45, Sr50 и Sr1RS^{Amigo}, Yr5, Yr10 и Yr26.

Маркерный анализ 19 сортов озимого и 7 ярового тритикале, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь в 2014–2015 гг. показал, что в изученных сортах присутствуют фрагменты амплификации, сцепленные с ге-

Таблица. Представлены сорта озимого и ярового тритикале, внесенные в Государственный реестр сортов Республики Беларусь, с идентифицированными генами устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчине

Название сорта	Происхождение сорта	Наличие/отсутствие локусов						
		<i>Lr25/Pm7</i> (F20/R19)	<i>Sr2</i> (<i>csSr2</i>)	<i>Lr26/Sr31/Yr9/Pm8</i> (P6M12-P)	<i>Sr31/Sr50</i> (IB-267)	<i>Lr26/Sr31/Yr9/Pm8</i> (Iag95)	<i>Yr5</i> (STS7/8)	<i>Yr10</i> (Yr10F/R)
с яровым типом развития								
Милькаро	Польша	–	+	–	–	–	–	–
Садко	Беларусь	–	+	–	–	–	–	–
Карго	Польша	–	–	–	+	–	–	–
Матейко	Польша	–	+	–	–	–	–	–
с озимым типом развития								
Динамо	Беларусь	–	–	–	+	–	–	–
Гренадо	Польша	+	–	+	–	–	+	+
Антось	Беларусь	+	–	–	–	+	–	+
Прометей	Беларусь	+	–	–	–	–	–	–
Эра	Беларусь	–	–	–	+	–	–	–
Жыцень	Беларусь	+	–	–	–	–	–	+
Михась	Беларусь	+	–	–	–	+	–	–
Кастусь	Беларусь	–	–	–	+	–	–	–
Руно	Беларусь	–	–	–	+	–	–	–
Алико	Польша	–	–	–	–	+	+	+
Динаро	Польша	–	–	+	+	–	+	+
Бальтико	Польша	–	–	–	–	+	+	–
Паво	Польша	–	–	–	–	+	Н	+
Янко	Польша	–	–	–	+	–	Н	+
Модерато	Польша	–	–	+	+	+	–	+
Витон	Польша	–	–	–	+	+	–	–
Папсуевская	Украина	–	–	+	+	–	–	–

Примечание – Фрагментов амплификации, сцепленных с генами устойчивости *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19/Sr25*, *Lr20/Sr15/Pm1*, *Lr21*, *Lr24/Sr24*, *Lr28*, *Lr34/Yr18/Pm38*, *Lr35/Sr39*, *Lr37/Sr38/Yr17*, *Lr47*, *Sr22*, *Sr26*, *Sr1RS^{Amigo}*, *Sr36*, *Sr40*, *Sr44*, *Sr45*, *Yr26* не выявлено

нами устойчивости *Lr25/Pm7*, *Lr26/Yr9/Sr31/Pm8*, *Sr2*, *Yr5* и *Yr10* (табл.). Носителями генов устойчивости *Lr25/Pm7* были сорта озимого тритикале белорусской селекции: Антось, Прометей, Жыцень, Михась и польской – Гренадо. У сорта Гренадо выявлены и гены устойчивости к желтой ржавчине *Yr5* и *Yr10*. Анализ сортов тритикале с помощью фланкирующих кластер сцепленных генов *Lr26/Yr9/Sr31/Pm8* маркеров P6M12-P и Iag95 показал, что фрагменты амплификации длиной 260, 360 п.н. (P6M12-P) и 1050 п.н. (Iag95) присутствуют у сорта польской селекции Модерато. Одновременно у сорта Модерато идентифицирован ген устойчивости *Yr10*. У сортов озимого тритикале Гренадо, Динаро, Папсуевская присутствовали только фрагменты амплификации длиной 260 и 360 п.н. характерные

для проксимально расположенного маркера P6M12-P, а сортов Антось, Михась, Алико, Бальтико, Паво, Витон амплифицировался фрагмент длиной 1050 п.н., характерный для дистально расположенного от сцепленных генов маркера Iag95. Ген устойчивости *Sr2* выявлен у сортов ярового тритикале польской селекции Милькаро, Матейко и белорусской селекции – Садко. У сортов: Алико, Динаро, Паво, Янко идентифицированы фрагменты амплификации, указывающие на присутствие генов устойчивости к желтой ржавчине *Yr5* и *Yr10*.

Выделенные сорта тритикале, носители эффективных генов устойчивости к возбудителям бурой, стеблевой и желтой ржавчины могут служить источниками этих генов при создании устойчивых сортов.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 65–66

ANALYSIS OF VARIETIES OF WINTER AND SPRING TRITICALE CULTIVARS RELEASED IN THE REPUBLIC OF BELARUS FOR THE PRESENCE OF RESISTANCE GENES TO LEAF, STEM AND YELLOW RUST

T.V. Dolmatovich, A.A. Buloichik

Institute of Genetics and Cytology NAN Belarus, T.Dolmatovich@igc.bas-net.by

With the help of DNA markers analyzed varieties of winter and spring triticale, included in the State Register of the Republic of Belarus of varieties for the presence of resistance genes to leaf, stem and yellow rust of wheat. Analyzed markers linked to resistance genes: *Lr1*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19/Sr25*, *Lr20/Sr15/Pm1*, *Lr21*, *Lr24/Sr24*, *Lr25/Pm7*, *Lr26/Yr9/Sr31/Pm8*, *Lr28*, *Lr34/Yr18/Pm38*, *Lr35/Sr39*, *Lr37/Sr38/Yr17*, *Lr47*, *Sr2*, *Sr22*, *Sr26*, *Sr36*, *Sr40*, *Sr44*, *Sr45*, *Sr50* and *Sr1RS^{Amigo}*, *Yr5*, *Yr10* and *Yr26*. It is shown that in Belarus zoned varieties of winter and spring triticale present resistance genes *Lr25/Pm7*, *Lr26/Yr9/Sr31/Pm8*, *Sr2*, *Yr5* and *Yr10*. These varieties of triticale can serve as sources of effective resistance genes to pathogens brown, stem and stripe rust.

УДК 632.4: 632.9

ИЗУЧЕНИЕ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS* ИЗ МЕРЗЛЫХ ОТЛОЖЕНИЙ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

О.В. Доманская^{1,2}, Н.Н. Колоколова¹, Я.В. Франк¹

¹Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия, sampanella2004@mail.ru

²Тюменский научный центр СО РАН, Тюмень, Россия, olga-nv@bk.ru

Исследована антифунгальная активность бактериальных штаммов рода *Bacillus*, выделенных из мерзлоты, в отношении фитопатогенных грибов родов *Alternaria*, *Fusarium* и *Microdochium*. Антифунгальную активность бактериальных штаммов оценивали методом диффузии в агар. По результатам эксперимента установлено, что штамм *Bacillus megaterium* 312 TS, при температуре культивирования 5 °С, проявляет антифунгальную активность в отношении исследуемых фитопатогенных грибов. Штамм *Bacillus cereus* 875 TS проявил избирательную антифунгальную активность к грибам рода *Fusarium*. Отмечен потенциал сибирских штаммов и их перспективность использования для биоконтроля фитопатогенов, а также целесообразность поиска бактериальных изолятов из мерзлоты.

Ключевые слова: антифунгальная активность, мерзлые породы, *Bacillus spp.*, фитопатогенные грибы.

В настоящее время против вредителей и болезней сельскохозяйственных культур, в большинстве случаев, применяются химические средства защиты растений. Следует отметить, что, наряду с высокой эффективностью в подавлении численности вредных организмов, химические пестициды вызывают резистентность у патогенов и появление видов, не восприимчивых к химическим воздействиям. Биологическая защита растений на современном этапе включает использование и применение биопрепаратов на основе живых культур микроорганизмов. Бактерии рода *Bacillus* вызывают большой интерес у исследователей, что связано с их способностью продуцировать биологически активные вещества, в том числе ферменты и антибиотики, спектр которых зависит от географического происхождения изолятов [Price NPJ, Rooney AP et al., 2007]. В микробной биотехнологии большое значение придается препаратам, производимым для сельского хозяйства, наиболее известные из которых относятся к инсектицидным и пестицидным препаратам, бактериальным удобрениям и кормовому белку. Изучение возможности использования явления микробного антагонизма, а также способности микроорганизмов стимулировать рост и развитие растений относится к числу наиболее важных направлений в прикладной микробиологии. С учетом вышеизложенного, проведен скрининг бактерий рода *Bacillus* для выявления антифунгальной активности в отношении фитопатогенных грибов. Объектами исследования служили чистые культуры бактерий – *Bacillus megaterium* 312 TS, *Bacillus cereus* 1257 TS, *Bacillus cereus* 875 TS, *Bacillus simplex* 948P-1 TS, выделенные из мерзлых пород Западной Сибири. В качестве тест-объектов использовали фитопатогенные грибы *Alternaria sp.*, *Fusarium avenaceum* (Fr.) Sacc., *Fusarium graminearum* (Schwabe), *Microdochium nivale* (Fr) Samuels & I.C. Hallet, предоставленные сотрудниками кафедры ботаники, биотехнологии и ландшафтной архитектуры Тюменского государственного университета. Для сравнения антифунгальной активности был выбран штамм *Bacillus sp.* МЗ ВКПМ В-10130, выделенный из мерзлых пород Якутии и проявляющий широкий спектр антагонистической активности, предоставленный сотруд-

никами Тюменского научного центра СО РАН. Грибные культуры поддерживали на картофельно-глюкозном агаре. Антифунгальную активность в отношении патогенов определяли методом лунок в толще агара [Егоров Н.С., 2004]. Испытуемые бактериальные штаммы культивировали в мясопептонном бульоне при температуре 5 °С в течение 7 суток, а при 22 °С и 45 °С – в течение 48 часов. Бактериальную суспензию (100 мкл) вносили в лунки диаметром 8 мм. Результаты оценивали по диаметру зон подавления роста тестируемых фитопатогенных грибов бактериями-антагонистами при температуре инкубирования 22 °С в течение 4 суток. Контролем служила стерильная дистиллированная вода.

Анализ антифунгальной активности *B. megaterium* 312 TS показал, что ингибирующая активность по отношению к исследуемым фитопатогенным грибам с образованием стерильных зон отмечается у бактериальной культуры, выращенной при температуре 5 °С, а при 22 °С и 45 °С – не выявлена. Возможно, это объясняется тем, что, при низких положительных температурах штамм *B. megaterium* 312 TS выделяет метаболиты, под влиянием которых происходит угнетение роста грибов. Штамм *B. cereus* 875 TS, выращенный при температуре 22 °С и 45 °С проявил избирательную антифунгальную активность к грибам *Fusarium spp.*, выраженную в замедлении скорости роста мицелия. Следует отметить, что бактериальные штаммы *B. cereus* 1257 TS, *B. simplex* 948P-1 TS и *Bacillus sp.* МЗ, выделенный из мерзлоты Якутии, не проявляли ингибирующей активности в отношении исследуемых фитопатогенных грибов.

Таким образом, в результате скрининга штаммов бактерий-антагонистов к фитопатогенным грибам, выделены 2 эффективных штамма – *B. megaterium* 312 TS и *B. cereus* 875 TS, также отмечен индивидуальный характер антифунгальной активности на уровне вида. Данный потенциал сибирских штаммов определяет перспективность их использования в качестве биологического средства для контроля численности фитопатогенных грибов в условиях Западной Сибири, а также свидетельствует о целесообразности более широкого поиска таких изолятов.

Библиографический список (References)

Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. – 528 с.

Price NPJ, Rooney AP et al. Mass spectrometric analysis of lipopeptides from *Bacillus* strains isolated from diverse geographical locations // FEMS Microbiology Letters, 2007. V. 271. P. 83–89.

STUDY OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS* FROM PERMAFROST OF WESTERN SIBERIA

O.V. Domanskaya^{1,2}, N.N. Kolokolova¹, Ya.V. Frank¹.

¹Tyumen State University, campanella2004@mail.ru

²Tyumen Scientific Center, SB RAS, olga-nv@bk.ru

Antifungal activity of bacterial strains of the *Bacillus* sp. isolated from permafrost against phytopathogenic fungi *Alternaria*, *Fusarium* and *Microdochium* was investigated. Antifungal activity of the bacterial strains was evaluated in agar diffusion method. According to the result of the experiment revealed that *Bacillus megaterium* strain 312 TS, cultivation at 5 °C, exhibits antifungal activity against phytopathogenic fungi investigated. The strain of *Bacillus cereus* 875 TS showed selective antifungal activity to fungi of the genus *Fusarium*. Potential of Siberian strains and their prospects for the use of biological control of plant pathogens and the feasibility of finding bacterial isolates from permafrost are discussed.

УДК 632.938.1

МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ САЛАТА (*LACTUCA SATIVA* L.) В СЕЛЕКЦИИ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К *TOMATO ASPERMY CUCUMOVIRUS*

И.А. Енгальчева, О.В. Павлова

Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур РАН, Московская область, Россия, pavlovaohana@mail.ru

Проведена иммунологическая оценка образцов салата: сортов, видов, межвидовых и внутривидовых гибридов различных поколений на устойчивость к вирусу аспермии томата. Выделены перспективные формы, представляющие практический интерес для селекции на устойчивость к *Tomato aspermy cucumovirus* – *AsTV*.

Ключевые слова: салат, *Lactuca sativa* L., вируса аспермии томата, *Tomato aspermy cucumovirus*, устойчивость, межвидовая гибридизация.

Поражение растений салата различными вирусными патогенами было и остается основным лимитирующим фактором, снижающим товарное качество и урожайность салата (*Lactuca sativa* L.). В последние годы нарастает вредоносность вируса мозаики салата (*Lettuce mosaic virus* – *LMV*) и вируса аспермии томата (*Tomato aspermy cucumovirus* – *AsTV*), создающих серьезную угрозу для семеноводства. Кроме того, в условиях открытого грунта поражение салата смешанной вирусной, грибной, бактериальной инфекциями не является редким явлением, и поэтому вероятность потери урожая от такого взаимодействия довольно высока. Этому способствует, в первую очередь, возделывание сортов со слабой устойчивостью к вирусам, а также своеобразные климатические условия Центрального региона РФ, особенно в весенне-летнее время, когда наблюдается большой перепад дневных и ночных температур, высокая влажность, а в отдельные годы — обилие насекомых-переносчиков, которые создают высокий инфекционный фон.

В решении проблемы обогащения генофонда этой экономически важной культуры новыми источниками устойчивости, основная роль принадлежит межвидовой гибридизации. По средствам межвидовой гибридизации можно передать ценные гены от диких видов к культурным, расширить спектр генетической изменчивости и получить перспективные исходные формы, обладающие ценными хозяйственными признаками и высокой устойчивостью к основным болезням. По литературным данным *L. saligna* является носителем доминантных генов устойчивости к мучнистой росе и вирусу мозаики [Lebeda et al., 1994]. Наиболее детально исследованы для гибридизации с культурными формами такие представители рода *Lactuca* как *L. serriola*, *L. saligna*, *L. virosa* [Netzer et al., 1976; Bonnier

et al., 1992; Chin et al., 2001; Hayes et al., 2004; Jeuken, 2004]

Во ВНИИССОК идет постоянная работа лабораторий предбридингового центра по привлечению новых диких видов салата, преодолению их нескрещиваемости, иммунологической оценке материала различных поколений на устойчивость к основным фитопатогенам, выделению и созданию ценных форм на основе межвидовой гибридизации.

Цель нашей работы — проведение на провокационном инфекционном фоне иммунологической оценки культурных и диких видов салата, гибридов различных поколений, полученных при межвидовом скрещивании, и перспективных форм с точки зрения устойчивости к *Tomato aspermy cucumovirus*.

Материал и методика исследований

Материалом для исследований служили растения линий и сортов разновидностей салата, дикие виды (*L. serriola*, *L. saligna*, *L. virosa*, *L. livida*, *L. scariola*), гибриды разных поколений (F₁, F₂, F₃, F₄).

Идентификацию фитовирусов проводили методами визуальной, серологической диагностики (иммуноферментный анализ), методом растений-индикаторов, «экспресс-методом» с использованием иммунострипов, методом электронного микроскопии.

В течение всего вегетационного периода проводилась визуальная оценка, позволившая выявить растения с симптомами вирусного поражения.

Метод растений-индикаторов. Для подтверждения инфекционного начала обнаруженных симптомов в лабораторных условиях листья с отобранных растений использовали для механической инокуляции. В качестве растений – индикаторов в лаборатории иммунитета и защиты растений ВНИИССОК и лаборатории вирусологии Био-

лого-почвенного института ДВО РАН использовали растения томата (*Solanum lycopersicum*), пекинской капусты (*Brassica rapa*), табака (*Nicotiana tabacum*) сортов Ксанти и Самсун.

Электронная микрография проводилась на оборудовании Центра Коллективного пользования «Дальневосточный центр электронной микроскопии» (ИБМ ДВО РАН): электронный микроскоп «Libra 200 FE HT».

Иммуноферментный анализ (ИФА) по «сэндвич» варианту проводили с помощью диагностического набора фирмы Agdia по общепринятой методике. Оценку результатов иммуноферментного анализа (ИФА) проводили с помощью спектрофотометра при длине волны 480 нм, определяя относительную концентрацию вирусных частиц в пробах.

Устойчивость образцов оценивали на основе комплекса показателей: средний балл поражения, степень развития болезни, распространение болезни. По результатам визуальной оценки и ИФА определяли степень устойчивости образцов к вирусной инфекции.

Результаты исследований

Вирус аспермии томата – (*Tomato aspermy cucumovirus-AsTV*) на растениях салата вызывает симптомы осветления жилок на пластинах листьев, образование укороченной розетки, зональной крапчатости. На растениях пекинской капусты при инокуляции соком, полученным с пораженных листьев салата, наблюдалась карликовость. Кроме того, вирус вызывал изменение репродуктивных органов на растении-индикаторе, вследствие чего не образовывались семена. При электронной микроскопии в препаратах, изготовленных из сока инфицированных растений салата и капусты пекинской с симптомами угнетенного роста, обнаружены изометрические вирионы размером 40 нм.

Результаты по идентификации *Tomato aspermy cucumovirus* подтвердились и данными иммуноферментного анализа, проведенного в ФГБУН Биолого-почвенном институте ДВО РАН.

Нами был изучен достаточно обширный материал образцов салата различного генетического и географического происхождения по признаку устойчивости к *AsTV*. Массовое проявление симптоматики на растениях, как правило, было приурочено к периоду бутонизации-начала цветения растений. Эта фаза развития растений и являлась определяющей для дифференциации образцов на группы устойчивости к *Tomato aspermy cucumovirus*. По результатам оценки, проведенной в этот период, образцы распределяли на четыре группы устойчивости: толерантные, слабо-, средне- и сильновосприимчивые. При этом наибольший интерес для селекции представляют образцы, у которых высокая степень устойчивости отмечается на протяжении всего периода вегетации.

Проведенная в течение нескольких лет визуальная оценка и данные иммуноферментного анализа позволили выделить толерантные к *AsTV* образцы (табл).

При высоком общем фоне поражения появление признаков вирусной инфекции на листьях салата у данных образцов началось только в фазу бутонизации – начала цветения. По результатам ИФА в данных образцах содержание вируса в соке было незначительным (коэффициент экстинции 0.019–0.192). Балл поражения болезни по итоговой оценке у них был невысокий и составил 0.5–1.5.

Нужно отметить, что дикорастущие виды салата *L. saligna*, *L. scariola*, *L. serriola*, *L. livida* проявили относительную устойчивость к *AsTV*.

Таблица. Характеристика группы относительно устойчивых образцов салата к *Tomato aspermy cucumovirus*

Название образца	Фаза хоз. годности, балл поражения		Фаза бутонизации-начало цветения, балл поражения		Коэффициент экстинции*	Содержание вируса в соке
	$X_{cp} \pm Sx$	$C_v, \%$	$X_{cp} \pm Sx$	$C_v, \%$		
<i>L. saligna</i>	0	0	0.5	0	0.186	незначительное
<i>L. scariola</i>	0	0	0.5	0	0.157	незначительное
<i>L. serriola</i>	0	0	0.5	0	0.164	незначительное
<i>L. livida</i>	0	0	0.5	0	0.192	незначительное
F ₂ Хамелеон x <i>L. serriola</i>	0	0	1.80±0.03	1.43	0.114	незначительное
F ₂ Алекс x <i>L. scariola</i>	0	0	1.33±0.08	5.73	0.163	незначительное
F ₂ Хамелеон x <i>L. scariola</i>	0	0	1.21±0.08	6.23	0.167	незначительное
F ₂ Алекс x Frysbj	0	0	1.06±0.06	5.87	0.197	незначительное
F ₄ Хамелеон x <i>L. serriola</i>	0	0	1.1±0.07	58.47	0.016	незначительное
Коралл	0	0	1.5±0.03	56.52	0.019	незначительное
Танго	0	0	1.50±0.06	55.87	0.019	незначительное
Хамелеон	0	0	2.65±1.22	55.95	0.232	среднее
Алекс	0	0	2.15±1.20	55.81	0.215	среднее
Букет	0.5	0	2.50±0.55	36.67	0.314	среднее

Практический интерес для селекции представляют также некоторые образцы из средней группы устойчивости. Так, у образцов Хамелеон, Алекс, Букет балл поражения был достаточно высокий и составил 2.15–2.65. При этом коэффициент вариации находился в пределах значи-

тельной изменчивости ($C_v = 36.67–55.95\%$). Данные сорта внутри своей популяции имели растения с баллом поражения 0; 0.5; 1, что составило 35.6–44.3% от всей структуры популяции в зависимости от образца.

Библиографический список (References)

Biddle A.J., Cattlin N.D. Pests, diseases, and disorders of peas and beans// NW: Publishing Manson.– 2007.
Bonnier F. J., Reinik M. K., Groenwald R. A search for new sources of major gene resistance in *Lactuca* to *Bremia lactucae* Regel // Euphytica 1992. – V. 61. P. 203–211.
Brunt A. at all. Viruses of plants (Descriptions and lists from the VIDE Database)//UK, CAB International.– 1996.

Chin D. B., Arroyo-Garcia R., Ochoa Os. E., Kesseli R. V., Lavelle D. O., Michelmore R. W. Recombination and Spontaneous Mutation at the Major Cluster of Resistance Genes in Lettuce (*Lactuca sativa*).//Genetics– 2001. – Vol. 157. – P. 831–849.
Hayes, R.J., Ryder, E.J., Robinson, B.J. Introgression of Big Vein Tolerance from *Lactuca virosa* L. into Cultivated Lettuce (*Lactuca sativa* L.) // Hortscience 2004. – V. 39(4). – P. 881–897.

Lebeda A and Reinink K. Histological characterisation of resistance in *Lactuca saligna* to lettuce downy mildew (*Bremia lactucae*) // *Physiol Mol Plant Pathol* 1994. – V. 44. – P. 125–139

Netzer D., Globerson D., Sacks J. *Lactuca saligna* L., new source of resistance to downy mildew (*Bremia lactucae* Reg.) // *Horf. Science* – 1976. – Vol. 11. – P. 612–613

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 68–70

INTERSPECIES HYBRIDIZATION OF LATTUCE (*LACTUCA SATIVA* L.) IN SELECTION FOR RESISTANCE TO TOMATO ASPERMY CUCUMOVIRUS

I.A. Engalycheva, O.V. Pavlova

All-Russian Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production, pavlovaoxana@mail.ru

The immunological evaluation of lettuce samples has been done: varieties, species, interspecific and intraspecific hybrids of different generations for resistance to *Tomato aspermy cucumovirus*, providing promising forms of practical interest.

УДК 57.085.2

РАЗРАБОТКА МЕТОДИЧЕСКОЙ СХЕМЫ КОНТРОЛЯ ГАМЕТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ РЕГЕНЕРАНТОВ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ (*BRASSICA OLERACEA* L.) В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO* ПУТЕМ ДНК-ГЕНОТИПИРОВАНИЯ

Н.В. Епифанович, Ж.М. Мухина, Е.Г. Савенко, С.В. Королева, В.А. Глазырина,
Л.А. Шундрин, Ю.В. Епифанович

Всероссийский НИИ риса, Краснодар, Россия, agroplazma@gmail.com

В рамках данного исследования предпринимается попытка усовершенствовать схему получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной в культуре пыльников *in vitro*. Основной принцип такого улучшения – сравнение генотипов донорских растений и регенерантов с помощью микросателлитных маркеров.

Ключевые слова: культура пыльников *in vitro*; капуста белокочанная; дигаплоидная линия, микросателлитный профиль; гаметное происхождение регенерантов.

Безусловные конкурентные преимущества применения экспериментальной гаплоидии в практических селекционных программах важных сельскохозяйственных культур:

- сокращение времени создания высококачественного, конкурентноспособного селекционного продукта – сортов и гибридов F1;

- высокая морфологическая однородность – неотъемлемое требование качества.

Повышение выравненности отечественных гибридов капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) значительно поднимет их статус и конкурентоспособность на внутреннем российском рынке семян. В настоящий момент это крайне актуально, так как иностранными компаниями занято доминирующее положение на рынке семян овощей (до 80% сегмента семян внутреннего рынка страны).

С высокой эффективностью этого можно достичь при помощи перевода оригинальных линий (родительские формы гибридов) на дигаплоидный уровень с жестким массовым контролем гаметного происхождения получаемых дигаплоидов.

Классический способ гомозиготизации оригинальных линий – принудительное самоопыление и отбор наиболее выровненных потомств в течение 6–8 поколений. Для выполнения этих мероприятий у двулетних овощных культур, к которым относится и капуста белокочанная, необходимо 12–16 лет. Таким образом, селекционный процесс этой важнейшей сельскохозяйственной культуры является длительным и трудоемким.

В этой связи роль технологии гарантированного получения дигаплоидных линий для последующего использования их в качестве родительских форм особенно велика, так как позволяет в разы ускорить процесс создания коммерческих гибридов F1.

В рамках данного исследования предпринимается попытка усовершенствовать схему получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной в культуре пыльников *in vitro*. Усовершенствованная схема позволит сократить продолжительность селекционной работы по созданию «чистых» (гомозиготных) линий для получения F1 гибридов до 1 года, что в 10 раз меньше по сравнению с генетической схемой селекции двухлинейных F1 гибридов данной овощной культуры на основе физиологической самонесовместимости.

Основной принцип усовершенствования – сравнительное генотипирование донорных форм (источник эксплантов) и полученных из них регенерантов молекулярными (микросателлитными) маркерами. В работе используются маркеры: Na10-D09, Na12-A02, Na12-F12, Ni2-B02, Ni3-G04B, O112-A04, Ra2-E12, BRMS-006. Экспериментальным путем оптимизированы условия ПЦР применительно к исследуемым генотипам капусты белокочанной.

Для массового анализа информативным и достаточным является сравнение микросателлитного профиля лишь по одному маркеру, если он демонстрирует состояние гетерозиготности у донорной формы, так как дигаплоидный (гаплоидный) регенерант всегда будет гомозиготным в любом исследуемом локусе ДНК.

Учитывая, что в подавляющем большинстве случаев в качестве доноров используются гибриды F1, подобрать такой маркер несложно. При соматическом происхождении всегда будет наблюдаться идентичность микросателлитных профилей регенерантов с таковыми у донорных растений, чего не будет в случае их гаметного происхождения. Такой способ ранжирования регенерантов со 100%-й точностью выявит растения, имеющие гаметное происхождение (микроспоры).

Данная методическая схема в настоящее время проходит апробацию грунт-контролем. Отобранные вышеуказанным способом андрогенные регенеранты высажены в

теплицу для проверки однородности по морфологическим признакам.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 70–71

DEVELOPING OF METHODIC SCHEME OF GAMETE SOURCE CONTROL OF *BRASSICA OLERACEA* L. PLANT REGENERANTS IN ANTHER CULTURE BY DNA-GENOTYPING

N.V. Epifanovitch, Zh.M. Mukhina, E.G. Savenko, S.V. Koroleva, V.A. Glazyrina,
L.A. Shundrina, Yu.V. Epifanovitch

All-Russian Research Institute of Rice, agroplazma@gmail.com

There is an attempt to improve the scheme of double haploid lines of *Brassica oleracea* L. developing in anther culture. The main principle of such improving is comparing genotyping of donor forms (the explants source) and plants regenerated from these donors by microsatellite markers. In the case of somatic origination of regenerated plants there will be an identity of their microsatellite profiles with those of donor plants. In the case of gamete originations of regenerated plants there will not be such identity. Such method of ranging will identify gamete origination of regenerated plants with 100% precision.

УДК 635.21:557

ОЦЕНКА СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЧЕРНОЙ НОЖКЕ

Б.А. Ертаева

Казахский НИИ картофелеводства и овощеводства, Алматы, Казахстан, bibigul.ertaeva@mail.ru

На основе иммунологического исследования генофонда КазНИИКО выделить устойчивые к *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthorum*, *Pect. Carotovorum*) генотипы для селекции картофеля. Результаты оценки на устойчивость сортов картофеля к *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthorum*, *Pect. Carotovorum*) показали, что сорта: Аксор, Текес, Улан, Максим – отнесены к относительно устойчивым; Тамаша, Когалы, Альянс, Жанайсан, Аул, Тохтар, Акколь, Дуныша, Нэрли, Тамыр, Бирлик – отнесены к среднеустойчивым; Орбита, Тениз, Танда, Памяти Боброва, Астана, Кустанайские новости, Кокчетавский ранний – отнесены к восприимчивым сортам.

Ключевые слова: сорт, селекция, *Erwinia carotovora*, возбудитель.

Картофель – ценная сельскохозяйственная культура, используемая на продовольственные, кормовые и технические цели [Б.В. Анисимов, 2001]. Характер природно-климатических условий способствует доминированию отдельных представителей почвообитающих патогенов. По данным многих исследователей [Н.А. Дорожкин и др., 1979; А.С. Воловик, 1973], потери урожая картофеля от поражения этими болезнями составляют 1...30%, а в годы эпифитотий — 50% и более.

Борьба с почвообитающими патогенами затруднена, поэтому приоритетным направлением, ограничивающим их развитие, является селекция устойчивых сортов. Поиск исходного материала, невосприимчивого к заболеваниям, наиболее перспективно осуществлять среди дикорастущих и аборигенных культурных видов картофеля [Э.А. Власова, 1982] с учетом изменчивости природных популяций возбудителей болезней.

В Казахстане возбудитель мягких гнилей была слабо изучена, и в связи с этим нами проводились исследования по черной ножке, выделенных из клубней картофеля.

Целью нашей работы является на основе иммунологического исследования генофонда КазНИИКО выделить устойчивые к *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthorum*, *Pect. Carotovorum*) генотипы для селекции картофеля.

Подготовка бактериальной суспензии *Erwinia carotovora* для инокуляции. Для подготовки бактериальной суспензии для инокуляции, 48–72 часовую бактериальную культуру, выращенную на косяках питательного агара, смывали автоклавированной дистиллированной водой и готовили

суспензию концентрацией 1 млрд.кл/мл по оптическому стандарту мутности. Суспензию готовили в день инокуляции. Процесс приготовления суспензии проводится в асептических условиях.

Заражения растений для оценки устойчивости к *Erwinia carotovora* проводили в лабораторных условиях. Для этого использовались клубни районированных Казахских сортов картофеля. Для этой цели отбирали внешне здоровые среднего размера клубни от сорта, отмывали их с помощью щетки под струей проточной воды. Затем клубни резали и проверяли на наличие болезни. Клубни с любыми повреждениями и поражениями отбраковывали, заменяя их другими. Отобранный картофель после мойки подсушивали и стерилизовали 96%-м спирте и обжигали над пламенем спиртовки. Затем их разрезали на кусочки диаметром 3–4 см, толщиной 0.5см и раскладывали в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу. Инфицирование картофеля проводили в ламинар боксе методом нанесения капли суспензии объемом 0.1 мл на каждый диск. В контроле на диски наносят капли стерильной воды. Каждым штаммом заражают 2–3 ломтика. Для контроля использовали ткань того же клубня. Чашки Петри с образцами помещали в термостат на сутки при температуре 24–25 °С.

Учет пораженности растительного материала микроорганизмом осуществляли на 8–10-е дни, следующим образом: 9 баллов – 0% – нет загнивания, очень высокая устойчивость образца; 7 баллов – 1–25% – слабое загнивание, высокая устойчивость; 5 баллов – 26–50% – среднее загнивание, средняя устойчивость; 3 балла – 51–75% – сильное загнивание, низкая устойчивость; 1 балл – 76–100%

– очень сильное загнивание, очень низкая устойчивость, образцы картофеля, пораженные на 5, 3 и 1 баллы, относят к восприимчивым, а на 9, 7 – к устойчивым.

Эффективность создания исходного материала по различным направлениям селекции, в том числе и на устойчивость к возбудителям, во многом определяется наличием коллекционного материала, оцененного по основным хозяйственно ценным признакам.

За 2012–2014г исследований на устойчивость к черной ножке по клубням и по стеблям оценено 30 сортов из генофонда картофеля. Заражения растений для оценки устойчивости к *Erwinia carotovora* проводили в лабораторных условиях. Для этого использовались клубни и ботва казахстанских сортов картофеля.

Устойчивость растений по ботве определяется в лабораторных условиях путем искусственного заражения срезанных в поле неогрубевших стеблей, которые помещаются в суспензию культуры возбудителей черной ножки в заданной концентрации. Контрольные растения помещаются в колбы с водопроводной водой.

После прохождения клубнями инкубационного периода проводят учет поражения и определяют устойчивость анализируемого материала. Учет срезанных букетов проводят на 4-е сутки. Для оценки устойчивости к *Erwinia carotovora* в качестве контроля использовали как относительно устойчивого сорта – Гатчинский, как восприимчивого сорта – Столовый 19. Как показали результаты опытов абсолютно устойчивых и высокоустойчивых сортов не выявлено.

Результаты проведенных опытов 2012 г. показали, что сорта: Аксор, Текес, Улан, Максим – отнесены к степе-

ни относительно устойчивые; Тамаша, Когалы, Альянс, Жанайсан, Аул, Тохтар, Акколь, Дуняша, Нэрли, Тамыр, Бирлик – отнесены к степени среднеустойчивым; Орбита, Тениз, Танда, Памяти Боброва, Астана, Кустанайские новости, Кокчетавский ранний – отнесены к степени восприимчивым сортам.

По результатам испытаний 2013г. отобрано с относительно устойчивостью – 6, среднеустойчивостью – 6, восприимчивый – 8 сортообразцов картофеля к возбудителям черной ножки. Среди изученных сортов картофеля за 2013г наиболее стабильными и относительно устойчивыми к черной ножке по клубням являются Гатчинский, Максим, Тамаша, Когалы, Аксор, Дуняша.

По результатам испытаний 2014г. отобрано с относительно устойчивостью – 4, среднеустойчивостью – 3, восприимчивый – 3 сортообразцов картофеля к возбудителям черной ножки. Среди изученных сортов картофеля за отчетный 2014 г. наиболее стабильными и относительно устойчивыми к черной ножке по клубням являются Жанайсан, Елена, Жуалы, Дихан.

Результаты оценки на устойчивость сортов картофеля к *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthora*, *Pect. Carotovorum*) показали, что сорта: Аксор, Текес, Улан, Максим – отнесены к относительно устойчивым; Тамаша, Когалы, Альянс, Жанайсан, Аул, Тохтар, Акколь, Дуняша, Нэрли, Тамыр, Бирлик – отнесены к среднеустойчивым; Орбита, Тениз, Танда, Памяти Боброва, Астана, Кустанайские новости, Кокчетавский ранний – отнесены к восприимчивым сортам.

Библиографический список (References)

- Анисимов Б. В. Сортные ресурсы и качество семенного картофеля. М., 2001. 117 с.
- Власова Э. А. Эволюция фитопатогенного ландшафта растений рода *Lycopersicon Tom.* в связи с селекцией на иммунитет // Тр. по прикл. бот., ген. и сел. 1982. Т. 71, вып. 3. С. 100–106.
- Воловик А. С. Гнили клубней картофеля при хранении. М.: Колос, 1973. 72 с.
- Дорожкин Н.А., Вельская С.И., Григорьева Т.П. О смешанных клубневых гнилях картофеля при хранении// Сельскохозяйственная биология. М., 1979. Т. XIV. N 1.С. 109–111.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 71–72

EVALUATION OF POTATO VARIETIES FOR RESISTANCE TO BLACKLEG

B.A. Yertayeva

Kazakh Research Institute of Potato and Vegetable Growing, bibigul.ertayeva@mail.ru

On the basis of immunological studies of the gene pool Kaz RIPVG isolate resistant to *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthora*, *Pect. Carotovorum*) genotypes for potato breeding. The results of evaluation on the stability of potato cultivars to *Erwinia carotovora* (*Pectobacterium phytophthora*, *Pect. Carotovorum*) showed that the varieties: Axor, Tekes, Ulan, Maxim – attributed to the relatively stable; Tamasha, Kogaly, Alliance, Zhanaysan, Aul, Tokhtar, Akkol, Duniasha Nerli, Tamyр, Birlik – attributed to sredneustoychivym; Orbits, Tengiz, Tанда, Memory Bobrova, Astana, Kostanay news, Kokchetav early – attributed to susceptible varieties.

УДК 632.938.1

ФИТОФТОРОУСТОЙЧИВОСТЬ ОБРАЗЦОВ МЕКСИКАНСКИХ ДИКИХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ И ИХ ГИБРИДОВ К ТРЕМ ИЗОЛЯТАМ *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

Н.М. Зотеева

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, zoteyeva@rambler.ru

Целью данного исследования был поиск растений картофеля с крайне высокой устойчивостью к фитофторозу среди гибридов, полученных от образцов *Solanum guereiroense* (gr), *S. neoantipoviczii* (nan) и *S. papita* (pta), выделенных нами прежде. Популяции, состоящие из 20–40 растений, изучали с помощью метода заражения отделенных долей листьев тремя изолятами *Phytophthora infestans* при разных концентрациях инокулюма: стандартной (15000 зооспор/мл), повышенной

(24000) и высокой (50000). Расщепление по устойчивости в большинстве популяций наблюдали при заражении инокулюмом повышенной концентрации. Растения без симптомов болезни, выделенные в этих тестах, испытывали при заражении инокулюмом с концентрацией 50000 зооспор/мл. Потерю устойчивости отмечали у части растений pta и pta × nan (1 устойчивый : 1 восприимчивый), а также у nan × pta (4 : 1). Растения grr and grr × adg сохраняли устойчивость. Результаты исследований показывают, что поиск растений с высокой устойчивостью к фитофторозу возможен среди гибридных потомств выделенных образцов перечисленных выше мексиканских видов картофеля.

Ключевые слова: виды картофеля, устойчивость, изоляты *Phytophthora infestans*, концентрация инокулюма.

Картофель имеет долгую историю селекции, в том числе и по устойчивости к болезням, среди которых одной из наиболее вредоносных признан фитофтороз (возбудитель - *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary). Образцы диких и культурных видов картофеля начали использовать в селекции вследствие узости генетического пула сортов *Solanum tuberosum* L., выводимых, в основном, методом внутривидовой гибридизации. Мы изучили образцы *S. guerreroense* Corr. (grr), *S. neoantipoviczii* Buk. (nan) и *S. papita* Rydb. (pta), обладающие высокой устойчивостью к фитофторозу, что было выявлено ранее при использовании стандартной концентрации инокулюма [Zoteyeva et al., 2012], а также их гибриды, полученные от скрещиваний с растениями *S. tuberosum* group Tuberosum (tbr), *S. tuberosum* group Andigenum Juz. et Buk. (adg) и *S. tuberosum* group Phureja Juz. et Buk. (phu). Популяции, состоящие из 20–40 растений, оценивали методом заражения отделенных долей листьев. В экспериментах применяли стандартную (15000 зооспор/мл), повышенную (24000) и высокую (50000) концентрации инокулюма. Использовали три изолята *P. infestans*: SW058 [Ali et al., 2012], 88069 и H7 [Gomez-Alpizar et al. 2007; Ali et al., 2012; Åsman et al., 2014], применяемые в современных исследованиях. Устойчивыми считали растения, оцениваемые баллами от 6 до 9 по шка-

ле от 1 до 9. При использовании инокулюма стандартной концентрации все растения родительских образцов grr, nan, и pta и гибридов grr × adg, grr × tbr, nan × pta и pta × nan проявляли высокую устойчивость, а часть растений гибридов nan × tbr, nan × phu и все растения adg – чувствительность к инфекции. При увеличении концентрации инокулюма до 24000 зооспор/мл наблюдали снижение доли устойчивых растений до 40–60% в популяциях grr × adg, grr × tbr, nan × tbr и до 85–95% - в популяциях nan × pta и pta × nan. Для тестирования устойчивости растений родительских образцов и отдельных растений гибридов grr × adg, nan × pta и pta × nan, проявивших максимальную устойчивость (балл 9), использовали экстремально высокую концентрацию инокулюма (50000 зооспор/мл). Не поразились все 20 растений grr и выделенные растения grr × adg. Отмечено поражение средней степени (балл 5.5) у очень небольшой части растений nan и nan × pta и несколько большее (балл 3–4) - у половины растений pta и pta × nan. Результаты исследования показали частую встречаемость растений с крайне высокой устойчивостью листьев к фитофторозу у гибридов, полученных от скрещиваний с выделенными образцами *S. guerreroense*, *S. neoantipoviczii* и *S. papita*.

Библиографический список (References)

- Alpizar L.G., Carbone I., Ristaino J.B. An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies // Proc. Nation. Acad. Sci. 2007. V. 104. N 9. P. 3306–3311.
- Ali A., Moushib L.I., Lenman M., Levander F., Olsson K., Carlson-Nilson U., Zoteyeva N., Liljeroth E., Andreasson E. Paranoid potato. *Phytophthora*-resistant genotype shows constitutively activated defense // Plant Signal. Behav. 2012. V. 7. N 3. P. 1–9.
- Zoteyeva N., Chrzanowska M., Flis B., Zimnoch-Guzowska E. Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of N.I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR) // Amer. J. Potato Res. 2012. V. 89. P. 277–293.
- Åsman A.K.M., Vetukuri R. R., Jahan S. N., Fogelqvist J., Orcoran P., Avrova A.O., Whisson S. C., Dixelius C. Fragmentation of tRNA in *Phytophthora infestans* asexual life cycle stages and during host plant infection // BMC Microbiology. 2014. 14:30. doi:10.1186/s12866-014-0308-1.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 72–73

LATE BLIGHT RESISTANCE OF THE PARENTAL ACCESSIONS OF THREE MEXICAN POTATO SPECIES AND THEIR HYBRIDS ASSESSED USING THREE ISOLATES OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS*

N.M. Zoteyeva

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, zoteyeva@rambler.ru

The goal of this study was to find out the potato plants with an extreme foliar resistance to late blight among hybrids derived from the accessions of Mexican potato species *Solanum guerreroense* (grr), *S. neoantipoviczii* (nan) and *S. papita* (pta) found highly resistant in previous study using a standard inoculum concentration. The populations of 20–40 plants each were assessed in the leaflet tests using three isolates of *Phytophthora infestans* (SW058, 88069 and H7) and different inoculum concentrations (15000, 24000 and 50000 zoospor/μl). Segregation for the resistance within the majority of populations was noted when the inoculum comprised 24000 zoospor/μl. Highly resistant parental and hybrid plants selected in this test were screened using the inoculum concentration 50000 zoospor/μl. Around a half of pta and pta × nan plants was scored with resistance grades 2–4 and the other part with resistance grades 6–9. Lower part of infected plants (4 resistant : 1 susceptible) was noted among nan and nan × pta (resistance grades from 4 to 5 and from 6 to 9, respectively). Plants of grr and grr × adg were found resistant. Results of this study showed frequent occurrence of plants with extreme foliar resistance to late blight within the populations of selected accessions of *S. guerreroense*, *S. neoantipoviczii* and *S. papita* as well as of the hybrids derived from these accessions.

УДК 632.938.1

ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ НОВЕЙШИХ ПОСТУПЛЕНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ БОЛЕЗНЯМ

Е.В. Зуев, Т.В. Лебедева, М.М. Ковалева, А.Н. Брыкова, Л.Г. Тырышкин

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, tyryshkinlev@rambler.ru

Цель исследований – поиск и идентификация новых источников устойчивости мягкой пшеницы к 4-м широко распространенным и вредоносным грибным заболеваниям – листовой ржавчине, темно-бурой листовой пятнистости, мучнистой росе и фузариозу колоса. Всего изучили 284 образца яровой пшеницы новейших поступлений в коллекцию ВИР – кк-64975-65024; 65084-65154; 65240-65289; 65433-65482; 65554-65603; 65657-65670 – из 29 стран мира. В стадии проростков устойчивыми к листовой ржавчине были 12 образцов, к мучнистой росе – 7 образцов; формы, устойчивые к темно-бурой листовой пятнистости не идентифицированы. По результатам полевых экспериментов к фузариозу колоса устойчивы 3 и среднеустойчивы 34 образца. Девять образцов обладали резистентностью к 2-м либо 3-м болезням. Выделенные источники резистентности могут быть ценным материалом для селекции мягкой пшеницы на устойчивость в вышеназванным болезням.

Ключевые слова: источники устойчивости, листовая ржавчина, темно-бурая листовая пятнистость, мучнистая роса, фузариоз колоса.

Листовая ржавчина (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss), темно-бурая листовая пятнистость (*Bipolaris sorokiniana* Shoem.), мучнистая роса (*Blumeria graminis* (DC) E.O. Speerf. sp. *tritici* Em. Marchal) и фузариоз колоса (*Fusarium graminearum* Schwabe) – широко распространенные и вредоносные болезни мягкой пшеницы. Для создания сортов, устойчивых к болезням, необходим поиск источников высокого уровня резистентности. Мировая коллекция Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) играет значительную роль в решении этой задачи и в настоящее время наибольший интерес представляют образцы новейших поступлений в коллекцию. Цель данной работы – поиск и идентификация новых источников устойчивости к 4-м грибным болезням среди образцов новейших поступлений яровой мягкой пшеницы коллекции ВИР.

Материалом исследования служили 284 образца пшеницы с номерами каталога коллекции кк-64975-65024; 65084-65154; 65240-65289; 65433-65482; 65554-65603; 65657-65670) из 29 стран мира. При оценке устойчивости к листовой ржавчине проростки выращивали в кюветах на вате, смоченной водой при постоянном освещении и температуре 21–22 °С, заражали суспензией уредоспор возбудителя (смесь сборов с восприимчивых сортов пшеницы в Северо-Западном регионе России, Дагестане и Поволжье). Учет типа реакции проводили на 14-е сутки после заражения по шкале Е.Б. Майнса и Х.С. Джексона [Mains, Jackson, 1926]; к устойчивым относили образцы с типами реакции 0, 0₁, 1 и 2. При оценке устойчивости к темно-бурой листовой пятнистости горизонтально размещенные проростки опрыскивали водной суспензией спор изолята *B. sorokiniana* (концентрация 50 тыс. конидий на 1 мл); учет поражения проводили на 5-е сутки после инокуляции по оригинальной шкале [Тырышкин, 2008]; образцы с баллами поражения 0 и 1 рассматривали как высокоустойчивые, 2–4 – среднеустойчивые, 5 и 6 – восприимчивые. Оценку пораженности растений мучнистой росой проводили при заражении проростков популяцией гриба *B. graminis* f. sp. *tritici* из Северо-Западного региона Рос-

сии; через 7 дней после инокуляции определяли степень поражения первого листа [Кривченко и др., 1980]; к классу устойчивых относили растения с поражением 0 и 1 балл. Изучение устойчивости к проникновению возбудителя фузариоза колоса проводили в течение 1–4 лет на опытном поле Пушкинских лабораторий ВИР при заражении колосов суспензиями спор изолятов *F. graminearum* из Северо-Западного региона России (инфекционная нагрузка – 10⁵ КОЕ/мл). Учет развития болезни проводили на 18–21-ые сутки после инокуляции по площади поражения колоса [Ковалева, Гагкаева, 2008]; к устойчивым относили образцы с баллами поражения 1, 2; к среднеустойчивым – с баллом поражения 3.

К листовой ржавчине устойчивы российские сорта Лавруша, Воевода, Фаворит, Ольга, Алтайская 110, Омская 41, Мерцана, Тулайковская 108, Экада 113, Тулайковская 110, а также образцы к-65603 (Мексика) и к-65107 (Пакистан). У 7-и сортов отмечена гетерогенность по резистентности к болезни (Мария 1, Ульяновская 100, Памяти Майстренко, Уяровка, Омская 38, Кинельская Краса и Золотица.

Все изученные образцы были высоковосприимчивы к используемому в работе инокульному возбудителю темно-бурой листовой пятнистости.

Высоким уровнем ювенильной устойчивости к мучнистой росе характеризовались сорта из России Воевода, Фаворит, Мерцана, Тулайковская 110, из Украины Струна Мироновская и Вишиванка, а также Sable из Канады.

К фузариозу колоса устойчивы сорта из России Новосибирская 31, Омская 41 и Актюбе 10 из Казахстана; для 34 образцов характерен средний уровень резистентности.

Согласно результатам работы 9 образцов были устойчивы более чем к одной болезни, причем 3 из них – Воевода, Мерцана, Тулайковская 110 – устойчивы к ржавчине, мучнистой росе и фузариозу колоса.

Выделенные источники резистентности после генетического и агрономического изучения могут представлять ценный материал для селекции мягкой пшеницы на устойчивость к вредоносным заболеваниям.

Библиографический список (References)

Ковалева М.М., Гагкаева Т.Ю. Фузариоз колоса. Устойчивость генетических ресурсов зерновых культур к вредным организмам. Методическое пособие. М.: РАСХН, 2008. С. 151–184.

Кривченко В.И., Суханбердина Э.Х., Вершинина В.А., Лебедева Т.В. Методические указания. Изучение устойчивости злаковых культур к мучнистой росе. Л.: ВИР. 1980. 55 с.

Тырышкин Л.Г. Темно-бурая листовая пятнистость. Устойчивость генетических ресурсов зерновых культур к вредным организмам. Методическое пособие. М.: РАСХН, 2008. С. 112–120.

Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss. Phytopathology. 1926. Vol. 16. P. 89–120.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 74–75

RESISTANCE TO FUNGAL DISEASES IN NEW SPRING BREAD WHEAT ACCESSIONS OF VIR COLLECTION

E.V. Zuev, T.V. Lebedeva, M.M. Kovaleva, A.N. Brykova, L.G. Tyryshkin

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, tyryshkinlev@rambler.ru

The general aim of the work was to search and identify new sources of bread wheat resistance to four wide-spread and harmful fungal diseases: leaf rust, dark-brown leaf spot blotch, powdery mildew and *Fusarium* head blight. Two hundred and 84 samples comprising new entries of spring wheat in VIR collection from 29 countries (kk- 64975-65024; 65084-65154; 65240-65289; 65433-65482; 65554-65603; 65657-65670) have been studied. In seedling stage 12 samples were resistant to leaf rust, 7 ones to powdery mildew; accessions resistant to dark-brown leaf spot blotch have not been identified. According to field experiments results 3 and 34 samples were resistant and moderately resistant to head blight respectively. Nine entries were resistant to more than one disease. The identified samples could be valuable material in bread wheat breeding for resistance to above-mentioned diseases.

УДК 579.64:575.22:579.26

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КЛУБЕНЬКОВЫХ БАКТЕРИЙ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ *LUPINASTER* SP.

Е.С. Иванова, Р.С. Гуменко, Г.М. Саргалиева, Ан.Х. Баймиев

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, molgen@anrb.ru

Цель: исследование генетического разнообразия и филогении клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых растений рода *Lupinaster*, как мало изученных и перспективных для нужд сельского хозяйства. Методы: полимиридная цепная реакция (ПЦР) и ее модификации (RAPD, ПДРФ), секвенирование и анализ нуклеотидных последовательностей. Результаты. Было проанализировано 28 изолятов бактерий, выделенных из клубеньков растений рода *Lupinaster*. С помощью ПДРФ-анализа гена 16S рНК исследуемые изоляты были сгруппированы в 6 гомогенных групп, которые в дальнейшем на основе сравнительных анализов последовательностей генов 16S рНК и *recA* были отнесены к 2 группам клубеньковых бактерий: *Mesorhizobium* и *Rhizobium*. Филогенетический анализ на основе последовательностей симбиотических генов *nifH* и *nodC* показал их принадлежность только к роду *Mesorhizobium*. Область применения: сельское хозяйство. Выводы: впервые были выделены и исследованы микросимбионты бобовых растений *Lupinaster* sp.

Ключевые слова: бобово-ризобияльный симбиоз, гены «домашнего хозяйства», симбиотические гены, секвенирование.

Клубеньковые бактерии или ризобии – почвенные микроорганизмы, способные вступать в азотфиксирующий симбиоз с бобовыми растениями, обеспечивая их легкоусвояемой формой азота. Неотъемлемой составляющей геномов таких бактерий, являются симбиотические гены (*sym*-гены), характеризующиеся высокой мобильностью и подверженностью к горизонтальному переносу (ГПГ). Способность ризобий фиксировать атмосферный азот может значительно снижать зависимость сельского хозяйства от азотных удобрений. Природные популяции клубеньковых бактерий представляют собой ценный биоресурс при поиске бактериальных штаммов с полезными свойствами, инокуляция которыми позволит значительно повысить урожайность экономически важных сельскохозяйственных культур [Binde et al., 2009]. Поэтому исследования разнообразия и генетических характеристик природных популяций ризобий имеют несомненную практическую значимость, как для экологии, так и для сельского хозяйства.

Бобовые растения рода *Lupinaster* представляют для исследователей особый интерес, как с практической, так и с фундаментальной точек зрения. Они обладают ценными лекарственными, медоносными и декоративными свойствами. Кроме того представители данного рода характеризуются высокой зимостойкостью, малой осыпаемостью семян, а

также имеются сведения о хорошей поедаемости их крупным рогатым скотом, что делает их перспективными для использования в качестве кормовой культуры [Калинкина, 2013]. Но, несмотря на ряд положительных качеств, люпинник мало изучен и имеет сложное и весьма спорное систематическое положение [Павлова, 1989, 2006]. На сегодняшний день нет сведений и о микросимбионтах растений рассматриваемого рода, от которых напрямую зависит продуктивность бобового растения и которые благодаря своей тесной взаимосвязи со своим макросимбионтом являются важным генетическим признаком в систематике бобовых. Поэтому целью данной работы стало исследование генетического разнообразия и филогении ризобий, полученных из клубеньков бобовых растений рода *Lupinaster*.

Вначале был проведен общий анализ генетического разнообразия выделенных изолятов методом RAPD с использованием нескольких произвольных праймеров. Это позволило сократить количество образцов, за счет объединения микроорганизмов с идентичными RAPD-профилями в гомогенные группы, из которых в дальнейшем в работу брали только по одному образцу. На следующем этапе проводили предварительные филогенетические исследования методом ПДРФ-анализа гена 16S рНК с использованием мелкоцепящих рестриктаз (*BsuRI*, *Sse9I*, *HpaII*). Данный

этап позволил сгруппировать штаммы по филогенетически однородным группам. Для определения филогенетического положения исследуемых штаммов были секвенированы нуклеотидные последовательности фрагментов генов «домашнего хозяйства»: 16SpPHK размером около 1400 п.н. и *recA* размером около 500 п.н. и проведен их сравнительный анализ с уже известными аналогичными последовательностями из базы данных GenBank. Также были секвенированы последовательности *sum*-генов (*nifH* и *nodC*), кодирующих коровые части молекул, активно участвующих в становлении азотфиксирующего симбиоза.

В ходе работы было проанализировано 28 изолятов, полученных из клубеньков растений рода *Lupinaster*. Установлено, что они отличаются высоким полиморфизмом последовательности ДНК (13 гомогенных групп), хотя по ПДРФ-профилю гена 16SpPHK достаточно однородны (6

гомогенных групп). Определение филогенетического положения штаммов показало, что по последовательностям генов 16SpPHK и *recA* они делятся на 2 группы клубеньковых бактерий: *Mesorhizobium* и *Rhizobium*. В тоже время филогенетический анализ штаммов на основе последовательностей симбиотических генов *nifH* и *nodC* выявил, что все исследуемые микроорганизмы, являются родственными с бактериями рода *Mesorhizobium*. Такое несоответствие по филогении генов «домашнего хозяйства» и *sum*-генов можно объяснить широкой экспансией *sum*-генов в ассоциированных с растениями бактериальных сообществах посредством ГПГ, благодаря которой может происходить приобщение новых видов микроорганизмов к группе клубеньковых бактерий, а также формирование нетипичных для определенных видов бобовых растений штаммов ризобий.

Библиографический список (References)

Калинкина В.А. Морфо-биологические особенности проростков некоторых видов рода *Trifolium* L. // Modern Phytomorphology. 2013. P. 201–206.
Павлова Н.С. Сем. Бобовые – Fabaceae Lindl s.l. Сосудистые растения советского Дальнего Востока. М.: Наука, 1989. Т. 4. С. 191–339.
Павлова Н.С. Сем. Бобовые – Fabaceae Lindl s.l. Дополнения и изменения к изданию «Сосудистые растения советского Дальнего Востока» Владивосток: Дальнаука, 2006. Т. 1–8 (1985–1996). С. 173–174.

Binde D.R, Menna P, Bangel E.V, Barcellos F.G, et al. Rep-PCR fingerprinting and taxonomy based on the sequencing of the 16S rRNA gene of 54 elite commercial rhizobial strains // Appl. Microbiol. Biotechnol, 2009. V. 83. P. 897–908.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 75–76

GENETIC CHARACTERISTIC OF RHIZOBIA ISOLATED FROM *LUPINASTER* SP.

E.S. Ivanova, R.S. Gumenko, G.M. Sargaleeva, An.Kh. Baymieiev

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, molgen@anrb.ru

The aim of this research: a study of genetic diversity and phylogeny of insufficiently explored and promising for agriculture rhizobia isolated from wild legumes *Lupinaster* sp. Methods: Polymerase chain reaction with modification (RAPD, PCR-RFLP), sequencing and analysis of the nucleotide sequences. Results: A total of 28 bacterial isolates from the root nodules of *Lupinaster* sp. were analyzed. These isolates were classified into 6 types of 16S ribosomal DNA (rDNA) using PCR-RFLP analysis. They were grouped into 2 clades: *Mesorhizobium* и *Rhizobium*, when the phylogenies of 16S rDNA and *recA* genes were applied. Phylogenetic analysis of *nifH* and *nodC* genes showed that all isolates were identified as *Mesorhizobium*. Application area: agriculture. Conclusions: The microsymbionts of legumes *Lupinaster* sp. were for the first time isolated and analyzed.

УДК 57.084.1

ОЦЕНКА ВОСПРИИМЧИВОСТИ *GALLERIA MELLONELLA* (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA) К ЗАРАЖЕНИЮ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМИ МИКРОСПОРИДИЯМИ ПЯТИ ВИДОВ

А.Н. Игнатъева¹, Я.Л. Воронцова², О.Н. Ярославцева², И.В. Грушевая¹, Ю.С. Токарев¹

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, edino4estvo@mail.ru

²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

Цель работы – оценить способность микроспоридий различных видов к заражению пчелиной огнёвки *Galleria mellonella*. Споры микроспоридий *Vairimorpha ephestiae*, *Tubulinosema loxostegi* и *Nosema pyrausta* из чешуекрылых насекомых оказались инфекционны в отношении гусениц пчелиной огнёвки. Свежевыделенные споры микроспоридии *Nosema ceranae* из перепончатокрылых и *Paranosema locustae* из прямокрылых насекомых не были инфекционны для данного хозяина. На основании результатов работы и литературных данных можно сделать вывод, что пчелиная огнёвка может служить хозяином для различных видов микроспоридий, приспособленных к заражению чешуекрылых насекомых.

Ключевые слова: пчелиная огнёвка, инфекционность, пероральное заражение, чешуекрылые насекомые.

Как лабораторный объект, *Galleria mellonella* представляет значительный интерес для патологии насекомых благодаря значительному количеству работ в области биохимии, физиологии и молекулярной генетики, включая ме-

ханизмы функционирования иммуногенетической системы на молекулярном и клеточном уровнях, выполненных к настоящему времени в отношении пчелиной огневки. Это позволяет проводить широкий спектр исследований

механизмов патогенеза насекомых, вызываемого возбудителями заболеваний различных групп [Дубовский, 2015].

Кроме того, пчелиная огнёвка может выступать в качестве лабораторного хозяина для культивирования *in vivo* облигатных внутриклеточных паразитов, таких как микроспоридии, в том числе для массовой наработки инфекционных спор энтомопатогенов, используемых как продуценты микробиологических инсектицидов. В настоящей работе исследована восприимчивость *G. mellonella* к алиментарному заражению инфекционными спорами микроспоридий пяти видов.

Vairimorpha ephestiae. Данная микроспоридия представляет собой изолят из коллекции Ярослава Вайзера. Первоначально этот вид описан из мельничной огнёвки *Ephestia kuhniella*. При скармливании гусеницам младших возрастов пчелиной огнёвки спор этой микроспоридии, а также при иммерсии гусениц в суспензию спор (10^5 спор/мл) заражённость насекомых обычно достигала 80–100%, начало массовой спорогонии наблюдалось на 6–14 сутки. Хранение свыше года в виде высушенных трупов насекомых ведёт к инактивации инфекционного начала.

Tubulinosema cf. loxostegi. Данная микроспоридия, выделенная из бабочек лугового мотылька *Loxostege sticticalis*, отловленных в Ростовской области в 2013 г., представляет собой неидентифицированный вид, имеющий высокое родство с *Tubulinosema loxostegi* из того же хозяина, собранного в Новосибирской области в 2009 г. [Malysh et al., 2010]. При использовании образца спор, выделенных из одной особи лугового мотылька, для инфицирования 20 гусениц пчелиной огнёвки младших возрастов, заражённость последних достигала 80–100% через три недели после заражения. Помимо успешного заражения пчелиной огнёвки, для данного вида микроспоридий важно отметить высокий инфекционный потенциал при горизонтальной (алиментарным путём) и вертикальной (трансвариальным путём) передаче в отношении исходного хозяина [Malysh et al., 2014]. Споры сохраняют инфекционность при хранении в сухих трупах насекомых свыше года.

Nosema pyrausta. Данная микроспоридия выделена из гусениц кукурузного мотылька *Ostrinia nubilalis*, собранных в Краснодарском крае, и пассирована на лабораторной культуре лугового мотылька. Для успешного заражения гусениц пчелиной огнёвки было необходимо подавление иммунной системы насекомого-хозяина химическими ингибиторами профенолоксидазного каскада, от момента инфицирования до начала массовой спорогонии прошло не менее 1–2 месяцев; при этом типичный уровень заражённости не превышал 10%, а более высокие показатели наблюдались лишь в исключительных случаях. Пассирование данной микроспоридии через пчелиную огнёвку не приводило к повышению показателей инфекционности паразита в отношении данного вида хозяина.

Nosema ceranae. Эта микроспоридия известна как типичный паразит медоносных пчёл *Apis mellifera* и *Apis ceranae*, имеющий глобальное распространение. По некоторым данным [Malysh et al., 2014], она также способна заражать лугового мотылька в естественных условиях, однако многократные повторения экспериментов по инфицированию гусениц как пчелиной огнёвки, так и лугового мотылька спорами *N. ceranae*, изолированными из кишечника живых особей рабочих пчёл, не привели к положительным результатам.

Paranosema locustae. В некоторых работах [Henry, Oma, 1981] упоминается возможность заражения этой микроспоридией чешуекрылых насекомых. В одном из экспериментов нам удалось наблюдать 5%-ную заражённость гусениц лугового мотылька (N=20) через месяц после их инфицирования спорами *P. locustae*. Видовая принадлежность микроспоридии, реизолированной из единственной заражённой гусеницы, определена методом генотипирования по локусу SSU rRNA. Данный результат нам не удалось, однако, воспроизвести ни в последующих повторениях эксперимента на луговом мотыльке, ни при использовании в качестве тест-насекомого гусениц *G. mellonella*.

Исследования поддержаны грантом РФФИ 16-14-00005.

Библиографический список (References)

- Дубовский И.М. Эволюция резистентности вошинной огневки *Galleria mellonella* L. к энтомопатогенным бактериям и грибам // Автореф. ... д.б.н., 2015. Новосибирск: ИСиЭЖ. 46 с.
- Henry J.E., Oma E.A. Pest control by *Nosema locustae*, a pathogen of grasshoppers and crickets. // Burges, H.D. (Ed.), Microbial control of pests and plant diseases 1970–1980. Academic Press, New York, 1981. P. 573–586.
- Malysh J.M., Tokarev Y.S., Frolov A.N. Light microscopic and molecular detection of microsporidia infecting *Loxostege sticticalis* (Lepidoptera: Pyraustidae) in Eurasia // Abstr. 43th SIP Meeting. Trabzon, Turkey, 2010. P. 57–58.
- Malysh J., Tokarev Y., Frolov A., Ignatieva A., Issi I. Microsporidia in beetle webworm *Loxostege sticticalis* (Pyraloidea: Crambidae): a survey of 2013 // Abstr. 47th SIP Meeting. Mainz, Germany, 2014. P. 120.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 76–77

EVALUATION OF SUSCEPTIBILITY OF *GALLERIA MELLONELLA* (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA) TO INFECTION OF INSECT PATHOGENIC MICROSPORIDIA OF FIVE SPECIES

A.N. Ignatieva¹, Ya.L. Vorontsova², O.N. Yaroslavtseva², I.V. Grushevaya¹, Y.S. Tokarev¹

¹All-Russian Institute of Plant Protection, edino4estvo@mail.ru

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS

The goal of the present study is to determine ability of different species of microsporidia to infect greater wax moth *Galleria mellonella*. Spores of *Vairimorpha ephestiae*, *Tubulinosema loxostegi* and *Nosema pyrausta* from lepidopteran hosts were infective to greater wax moth larvae. Fresh spores of *Nosema ceranae* from a hymenopteran host and *Paranosema locustae* from an orthopteran host were not infective to *G. mellonella*. The latter can therefore serve as a host to microsporidia adapted to parasitism in lepidopteran hosts.

УДК 634.12:575.22:57.041

ВЫРОЖДЕНИЕ (ДЕГРАДАЦИЯ) ЯБЛОНИ СОРТА АПОРТ КАК БОЛЕЗНЬ НЕИНФЕКЦИОННОГО ХАРАКТЕРА И ПУТИ ЕГО ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ

М.М. Исин

Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан, a_sarbasova@list.ru

Иногда неинфекционные болезни растений могут быть опаснее инфекционных. Существует свыше 10 причин, вызывающих вырождение сорта яблок Апорт. Для решения данной работы. Выполнены исследования по микоклонированию и генотипированию разных сортов и форм дикой яблони *Malus sieversii*.

Ключевые слова: неинфекционные болезни, маточные деревья, черенки, подвой, семенные участки, экологический оптимум, сортовая агротехника, капельное орошение, дерново-перегнойная система, формы яблони Сиверса, генотипирование.

По классификации болезней растений в современной фитопатологии они делятся на две группы – инфекционные и неинфекционные. Возбудителем последних являются абиотические факторы среды, создающие неблагоприятные для растений условия выращивания – почвенные, водные, воздушные [Попкова 1989]. К этим причинам следует добавить еще экологические факторы и неправильные агрохозяйственные мероприятия. Эта группа болезней иногда бывает намного вреднее, чем некоторые инфекционные болезни. Примером может служить вырождение (деградация) яблони сорта Апорт. Слава Апорта в недалеком прошлом обошла весь мир, он награждался золотыми медалями многих международных выставок. По величине и внешней красоте плодов, особенно по гармоничному вкусу и изумительному аромату, Апорту не было равных как в прежнем, так и нынешнем мировом сортименте яблок. Граждане бывшего Союза, приезжая в Алма-Ату и возвращаясь домой, в качестве презента брали с собой только Апорт [Исин, 2014]. Газета «Комсомольская правда» писала: «Когда-то алматинский Апорт был Кремлевским деликатесом» (К.П. от 04.06.1999). В самом деле, по специальной разрядке советского правительства для правительственных приемов ежегодно поставлялись 2000 тонн плодов Апорта. В то время Апорт был символом Алма-Аты, национальной гордостью казахстанцев. Однако, к сожалению, о знаменитом сорте сегодня больше приходится говорить в прошедшем времени. За последние годы происходит вырождение Апорта: плоды мельчают внешний вид их тускнеет, теряют прежний вкус и аромат [Исин и др., 2015].

Нами установлено более 10 причин вырождения этого сорта. Фрагментарно укажем на главные из них.

1. Одна из главных причин вырождения Апорта – это бессистемное, неправильное размножение. Ошибка заключалась в том, что в качестве маточных деревьев отбирались экземпляры с хорошим приростом, без учёта урожайности и качества плодов, что нарушает законы питомниководства, по которым маточные деревья должны соответствовать лучшим свойствам сорта. После расформирования колхозов и совхозов проблематично найти типичные маточные деревья в промышленных садах. Но они сохранились в некоторых приусадебных и дачных участках, откуда и следует брать черенки для окулировки.

2. Слава Апорта была связана с тем, что подвоем для него служила местная дикая яблоня Сиверса (*Malus sieversii* Ldb). Однако за последние годы не на должном уровне было поставлено производство подвойно-семенного материала. Семена следует заготавливать на специально отобранном семенном участке. Нами отобраны два семенных участка в

Джунгарском и Заилийском Алатау, в 2016–2017 гг. планируется отобрать здесь еще 5–6 семенных участков.

3. Знаменитости Апорта способствовали особые экологические условия Заилийского и Джунгарского Алатау. Экологический оптимум, где сорт реализовывает весь свой биологический потенциал, лежит в пределах высот 950–1250 м над уровнем моря. Выше этой зоны ему не хватает тепла, ниже – сорт страдает от теплового напряжения. Однако Апорт начали сажать вне этой зоны, и он стал вырождаться, а в экологической зоне, сорта выращивали овощи, кукурузу, пшеницу и др., которым были пригодны и другие земли. Апорт следует вернуть на свою истинную землю, о чем мы неустанно пишем в СМИ и правительственные органы.

Другими причинами вырождения сорта является несоблюдение специфической сортовой агротехники.

4. Из всех сортов Апорт самый влаголюбивый. 2–3 полива, практиковавшиеся в колхозно-совхозном производстве, приводили к деградации сорта, и деревья в массе стали поражаться таким хроническим заболеванием, как цитоспороз. По апортовой агротехнике сад следует поливать 7–8 раз за вегетацию. Учитывая дефицит поливной воды предлагается внедрить в апортовом саду капельное орошение.

5. Важным элементом сортовой агротехники Апорта, улучшающей состояние деревьев и качество плодов, является создание в саду т.н. дерново-перегнойной системы путем посева многолетних трав и 3–4 кратном их скашиванием и оставлением на мульчу. Однако эта система нарушалась заготовлением сена на корм скоту. Следует запретить заготовку сена в апортовом саду.

6. Апорт сильнорослый сорт и требует пространства. Но когда его подгоняют под схему т.н. интенсивных сортов, он реагирует на это отрицательно, вырождаясь на глазах. Гуще 8х6 м Апорт сажать не рекомендуется. Наши отцы и деды Апорт сажали при густоте 10х8 м, они, видимо, лучше знали экологические особенности сорта.

Кроме установления причин вырождения Апорта нами проводились исследования и фундаментального характера. Так, путем микроклонирования лучших клонов сорта нами получено «новое растение» Апорт в пробирках (*in vitro*) с переводом его в контейнерную культуру (*in vivo*), а в дальнейшем с посадкой в грунт [Исин и др. 2014]. Молекулярно-генетические исследования показали, что не все формы дикой яблони Сиверса однозначны как подвой для Апорта. Путем генотипирования установлено, что только пять форм генетически совместимы с Апортом, и они должны быть настоящими подвоями для этого сорта [Dolgikh, Isin, 2013]. Весной 2015 г. нами впервые заложен экспериментальный апортовый сад на площади 5 га, где будет строго соблюдать-

ся сортовая агротехнология выращивания Апорта. Опыт состоит из 14 вариантов в том числе: две схемы посадки, 11

подвоев, три варианта из саженцев, полученных микрокло- нированием, и на 5 подвоях, генетически близких к сорту.

Библиографический список (References)

Исин М.М. К проблеме возрождения Алматинского апорта. //Материалы Международной научной конференции «Защита растений и экологическая устойчивость агробиоценозов». Алматы, 2014 г.– С. 273–282
Исин М.М., Сагитов А.О., Вечерко Н.А., Копжасаров Б.К., Сарбасова, Мурсалиева В.К. Микроклонирование яблонь (*Malus Domestica* и *Malus Sieversii*) с целью возрождения Алматинского апорта. // Материалы Международной конференции «Защита растений и экологическая устойчивость агробиоценозов». Алматы, 2014 г.– С. 282–286.

Исин М.М., Сагитов А.О., Долгих С.Г., Каирова Г.Н. «Результаты исследований по возрождению яблони сорта Апорт» //Материалы II Международного Конгресса «Глобальные изменения климата и биоразнообразие». Алматы, 2015 г.,– С.85–91.
Попкова К.В. Общая фитопатология. Москва. «Агропромиздат», 1989, – 398 с.
Dolgikh S.G., Isin M.M. Molecular and genetic assessment of sort-rootstock combinations of an apple-tree Aport/Current Opinion in Biotechnology, I.F. 8,93.-V 22.-Sup.1.- European Biotechnology Congress 2013, 15.05–17.05 2013, Bratislava.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 78–79

THE DEGENERATION (DEGRADATION) OF THE APORT APPLE VARIETY DUE TO NON-TRANSMISSIBLE PLANT DISEASE AND ITS CONTROL METHODS

M.M. Isin

Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine, a_sarbasova@list.ru

Sometimes non-transmissible plant diseases can be much more severe than certain transmissible ones. There are over 10 reasons of degeneration of the Aport apple variety. Thus, research was conducted on micro-cloning and genotyping of different varieties and forms of wild apples (*Malus sieversii*).

УДК 632.937+632.797+632.951

ФИТОСАНИТАРНОЕ КОНСТРУИРОВАНИЕ АГРОЦЕНОЗОВ КАК ОСНОВА БЕСПЕСТИЦИДНОЙ ЗАЩИТЫ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ОТ КОМПЛЕКСА ДОМИНАНТНЫХ ВРЕДИТЕЛЕЙ В СИСТЕМЕ ОРГАНИЧЕСКОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ

В.Я. Исмаилов, Ж.А. Ширинян, М.В. Пушня, А.О. Умарова

Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия, vniibzr@mail.ru

В результате многолетних исследований рассмотрены принципы фитосанитарного конструирования агроценозов, основанные на создании условий для привлечения энтомофагов, использовании «ловчей» культуры и преимуществ соблюдения севооборота и агротехнических приёмов. Предложенные принципы могут снизить вредоносность вредителей озимой пшеницы до экономически неощутимого уровня.

Ключевые слова: фитосанитарное конструирование, доминантные вредители, энтомофаги, озимая пшеница, пространственное формирование, биоценотический контроль, агробиотехнологические приемы.

В настоящее время разработка систем беспецицидной защиты сельскохозяйственных культур от вредных организмов в целях повышения их продовольственной и экологической безопасности является одной из важнейших хозяйственных, социальных и природоохранных проблем. Достижение этого специалисты связывают с органическим земледелием, где применение химических средств защиты растений и удобрений запрещается.

Законодательное Собрание Краснодарского края 22 октября 2013 г. приняло закон «О производстве органической сельскохозяйственной продукции на Юге России», целью которого является разработать и практически освоить беспецицидные технологии возделывания и защиты растений от вредителей и болезней, путем выработки единой стратегии производства чистой продукции на Кубани.

Одним из приоритетных направлений в развитии органического земледелия является фитосанитарное проектирование агроэкосистем на основе естественной регуляции численности вредных организмов и технологий биологической защиты растений с целью получения органической продукции. Здесь чрезвычайно важна стратегия долгосрочной биоценологической регуляции, основанной на оптимизации структуры и активности аборигенных энтомоокарифагов. Разработкой этой стратегии коллектив исследователей

во ВНИИБЗР занимается уже на протяжении шести лет [Shirinyan, Ismailov, 2015, Ширинян и др.,2015].

Исследования проводились в центральной агроклиматической зоне Краснодарского края в условиях стационарного 8-польного зернотравнопропашного севооборота, производственных и опытных посевов участков энтомофильных, нектароносных и «ловчих» культур на территории ВНИИБЗР. Анализ накопленных экспериментальных данных (2009–2015 гг.) подтвердил долговременную биоценологическую регуляцию численности главного вредителя озимой пшеницы и других зерновых колосовых – клопа вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. за счет высокой эффективности природных популяций яйцепаразитов – теленомусов сем.Scelionidae в зараженности первых яйцекладок клопа. Такие результаты были достигнуты подержанием в структуре посевных площадей агроэкосистемы не менее 37–40% пропашных культур (подсолнечник, кукуруза, соя) и небольших участков энтомофильных и нектароносных растений (укроп, фацелия, кориандр), а также присутствия естественных стадий цветущего дикорастущего разнотравья шлейфовых полезационных лесополос, обочин полей, залежей, где активизируются деятельность и воспроизводство популяций аборигенных энтомофагов

[Ширинян, Исмаилов, 2015, Shirinyan, Ismailov, 2015, Ширинян и др., 2015].

Установлено, что в течение последних 6 лет теленомусы заражали в начале яйцекладки вредной черепашки на посевах озимой пшеницы от 60.0 до 89.1% яиц, что позволяло заблаговременно ежегодно прогнозировать отмену защитных обработок против личинок вредителя в фазе молочной спелости зерна. Уровень эффективности энтомофагов (УЭЭ) составил 40–50% зараженности первых яйцекладок клопа. Предуборочная численность личинок, отродившихся из незараженных яиц клопа-черепашки на протяжении всего периода наблюдений, не превышала 1.6%, что не имело хозяйственного значения.

Другим обязательным элементом, не требующим специальных обработок на посевах озимой пшеницы, является использование отвлекающих «ловчих» культур, подсеваемых вблизи защищаемого посева (удаленность не более 200–300 м). Их большая привлекательность для вредителей обуславливает концентрацию последних на небольших ограниченных участках, которые впоследствии скашивают или обрабатывают для уничтожения фитофагов препаратами. Установлено, что благодаря возделыванию «ловчих» культур (яровых сортов пшеницы или ячменя) на посевах защищаемой культуры – озимой пшеницы степень повреждения пьявицей красногрудой *Lema melanopus* L. флагового листа, определяющего урожайность, была не более 14.6% при заселенности 12% растений, что не представляло угрозы для массы зерна и его качества. При этом степень заселения жуками пьявицы листового аппарата «ловчей» культуры – яровой пшеницы достигала 61–71%. Средневзвешенная численность фитофага в 3.7–5.5 раза превышала ЭПВ.

Определено, что на озимой пшенице, возделываемой по люцерне (с основной обработкой почвы – глубокая ранняя вспашка с оборотом пласта) в краевой зоне 100 м от лесополосы получены самые высокие количественные параметры массы 1000 зерен (39.0 г). При оптимальной густоте продуктивного стеблестоя (528–536 колосьев/м²) биологическая урожайность составила 66.1–69.6 ц/га, что выше, чем на более изреженных посевах по подсолнечнику и бессменной монокультуре – пшеница по пшенице.

Важно отметить, что при размещении посевов озимой пшеницы вблизи участка отвлекающей «ловчей» культуры

– яровой пшеницы (удаленность 0–100 м), резко снижалась численность личинок пшеничного трипса *Haplothrips tritici* Kurd, до 5.2–9.6 экз./колос, защищаемой культуры. Потери массы зерна составили 1.89 ц/га, что при урожайности озимой пшеницы 68.1 ц/га не превышало 2.7% (ЭПВ 5.0%), и не имело хозяйственного значения. Определено, что вредитель сначала заселяет озимые, а затем перелетает на яровые злаки в связи с наличием пищевых стимулов у имагинальной фазы, связанных с выбором растений, находящихся на более ранних этапах развития. Отмечено, что с целью снижения потерь зерна и ограничения защитных обработок необходимо избегать повторных бессменных и сильноизреженных (ниже 300 колосьев/м²) посевов зерновых колосовых культур, на которых численность личинок пшеничного трипса постоянно превышает пороговый уровень.

Таким образом, введение в технологию возделывания озимой пшеницы активизации и воспроизводства естественных популяций энтомофагов в природных экосистемах путем поддержания в структуре посевных площадей не менее 37–40% пропашных культур (подсолнечник, кукуруза, соя); высева небольших участков энтомофильных и нектароносных растений (укроп, фацелия, кориандр); обеспечение наличия естественных стадий дикорастущего цветущего разнотравья, шлейфовых лесополос, обочин полей, залежей и целенаправленных фитосанитарных агроэкологических и агробиотехнологических базовых элементов (посев многолетних трав – люцерны – постоянных мест резерваций энтомофагов; посев в сжатые ранние сроки при достижении полевой спелости почвы отвлекающих «ловчих» культур – яровых сортов пшеницы или ячменя; своевременное проведение пожнивного лущения стерни с последующей ранней отвальной вспашкой для механического уничтожения зимующих в стерне и растительных остатках фитофагов; выбор правильных предшественников; исключение повторных бессменных и сильно изреженных посевов озимой пшеницы и других зерновых колосовых – главных резерватов пшеничного трипса весной; борьба с падалицей и др. существенно регулировало численность и вредоносность главнейших вредителей культуры, гарантируя сохранность урожая и высокое качество продукции без негативного воздействия на окружающую среду.

Библиографический список (References)

- Ширинян Ж.А., Исмаилов В.Я. Эколого-биоценологические закономерности пространственного распределения фитофагов и энтомофагов в агроэкосистемах как основа беспестицидной защиты озимой пшеницы от вредителей: агробиотехнологические приемы для органического земледелия // Энтомологическое обозрение, 2015. Т.95. N 2. с. 259–266.
- Zh. A. Shirinyan and V. Ya. Ismailov. Ecological and Biocenotic Regularities of the Spatial Distribution of Phytophages and Entomophages in Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 79–80
- Agroecosystems as the Basis of Non-Pesticidal Protection of Winter Wheat from Pests: Agro-Biotechnological Techniques for Organic Farming // Entomological Review, 2015. Vol. 95. No. 4. p. 463–473.
- Ширинян Ж.А., Исмаилов В.Я., Пушня М.В. Элементы беспестицидной защиты озимой пшеницы в центральной зоне Краснодарского края // Агротехнический метод защиты растений от вредных организмов. Материалы VII международной научно-практической конференции. Тез. докл. с.311–315.

PHYTOSANITARY CONSTRUCTION OF AGROSYSTEMS AS THE BASIS OF NON-PESTICIDE SPIKED CEREAL PROTECTION OF WINTER WHEAT AGAINST DOMINANT PEST COMPLEX IN ORGANIC FARMING

V.Ya. Ismailov, J.A. Shirinyan, M.V. Pushnya, A.O. Umarova
All-Russian Institute of Biological Plant Protection, vniibr@mail.ru

As a result, long-term studies are considered the principles of phytosanitary agrosystem construction, based on attracting predatory and parasitic insects, using the “hunting” of cultures and respect for the benefits of crop rotation and proper farming techniques. The proposed principles can reduce the damage of winter wheat pests to the dominant economic and imperceptible level.

УДК 632.938.1

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ИММУНОЦИТОФИТА НА ЗАПАДНОГО ЦВЕТОЧНОГО ТРИПСА ПРИ ОБРАБОТКЕ ОГУРЦА ПОСЕВНОГО

О.С. Кириллова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
ol-yurchenko@yandex.ru

Метод стимуляции механизмов самозащиты растений от вредных организмов получает все большее признание в мировой науке и практике. В условиях лабораторного эксперимента выявлены особенности влияния Иммуноцитопита на поведение и численность дочернего поколения западного цветочного трипса в зависимости от морфофизиологического состояния растений огурца посевного. Установлено, что при обработке препаратом семядольных листьев растений происходит снижение степени заселения фитофагом интактного первого листа обработанных растений, а также снижается численность дочернего поколения вредителя. При обработке первого настоящего листа различия опыта с контролем не были статистически достоверны. Результаты исследований говорят о необходимости детального изучения действия на фитофагов существующих препаратов с элиситорной активностью.

Ключевые слова: *Frankliniella occidentalis*, *Cucumis sativus*, степень привлечения, дочернее поколение, морфофизиологическое состояние.

Применение веществ с элиситорной активностью для иммунизации (повышения устойчивости) растений к повреждению биотрофами является одним из перспективных направлений снижения пестицидной нагрузки при проведении мероприятий по защите сельскохозяйственных культур в агроценозах [Буров и др., 2012; Тютюрев, 2014].

Все больше появляется работ, демонстрирующих возможность управления динамикой численности фитофагов с помощью индукторов устойчивости растений к патогенам, а также иммуномодуляторами и регуляторами роста растений [Яковлева, Мешков, 2011; Кириллова, 2015; Петрова и др., 2015].

Нами была проведена оценка влияния синтетического иммуномодулятора Иммуноцитопита на западного цветочного или калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* Pergande к обработанным растениям огурца посевного *Cucumis sativus* (сорт Флари).

Исследования проводили в лабораторных условиях. Препарат концентрацией рабочего раствора 0.15 г/л наносили на растения в 2-х вариантах: на семядольные листья и на первый настоящий лист. В качестве контроля использовали растения, обработанные водой. В условиях садкового эксперимента оценивали степень привлечения имаго трипса на вышерасположенные интактные листья через 48 часов после обработки растений. Влияние препарата на численность дочернего поколения оценивали по количеству количества личинок второго возраста.

Выявлено, что обработка Иммуноцитопитом семядольных листьев растений снижает привлечение западного цветочного трипса к обработанным растениям огурца на 23 %, тогда как при обработке первого настоящего листа наблюдали равномерное распределение самок трипса между опытными и контрольными вариантами.

Учет численности дочернего поколения фитофага показал аналогичную зависимость активности препарата от фазы растения на момент обработки. При обработке семядольных листьев происходило снижение численности потомства трипса на 30 % в сравнении с контролем.

Иммуноцитопит, действующим веществом которого является этиловый эфир арахионовой кислоты, активизирует в растениях каскад реакций, связанных с синтезом жасмоновой кислоты, которая в свою очередь индуцирует синтез ряда летучих соединений с репеллентной для многих фитофагов активностью, в том числе и в отношении западного цветочного трипса, а также активизирует синтез вторичных метаболитов негативно влияющих на численность дочернего поколения фитофагов [Omer et al., 2001; Egger, Koschier, 2014].

Результаты наших исследований демонстрируют, что действие иммуномодуляторов на фитофагов может зависеть от фазы растения на момент его обработки. В связи с этим, необходимо максимальное расширение экспериментальных работ, касающихся влияния используемых иммуномодуляторов на сопутствующие целевым объектам виды консументов.

Библиографический список (References)

- Буров В.Н., Петрова М.О., Селицкая О.Г. и др. Индуцированная устойчивость растений к фитофагам. // М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2012. с. 106–142.
- Кириллова О.С., Селицкая О. Г Циркон как иммуномодулятор устойчивости огурца к фитофагам // Вестник защиты растений, 2015. N 1. с. 58–62.
- Петрова М.О., Черменская Т.Д., Лепп Н.В. Индуцированная устойчивость растений баклажана к оранжевой белокрылке *Trialeurodes vaporariorum* Westw. // Известия СПбГАУ, 2015. N 39. С. 83–87.
- Тютюрев, С. Л. Природные и синтетические индукторы устойчивости растений к болезням. СПб.: ВИЗР, 2014. 212 с.
- Яковлева И.Н., Мешков Ю.И. Индуцирование репеллентных свойств растений огурца с помощью хитозансодержащего препарата Экогель // Гавриш, 2011. N 3. С. 30–32.
- Egger B., Koschier E.H. Behavioural responses of *Frankliniella occidentalis* Pergande larvae to methyl jasmonate and *cis*-jasmone // J. Pest Sci., 2014. V. 87. Issue 1. P. 53–59.
- Omer, A.D., Granetta J., Karbana R., Villa E.M. Chemically-induced resistance against multiple pests in cotton // Intern. J. Pest Management, 2001. V. 47, Issue 1. P. 49–54

IMPACT CHARACTERISTICS OF IMMUNOTSITOFIT TO WESTERN FLOWER THRIPS (*FRANKLINIELLA OCCIDENTALIS*)

O.S. Kirillova

All-Russian Institute of Plant Protection, ol-yurchenko@yandex.ru

Induction of a plant defense immunity mechanisms to harmful organisms gets greater confession in world science and practice. Responses of western flower thrips to cucumber plants, exposed to immunomodulator Immunotsitofit, were examined. Laboratory studies reveals, that application of Immunotsitofit to cotyledons of potted plants induces systemic release of volatile organic compounds, that repels thrips. Likewise, a number next generation of this herbivore was decreased, as compared untreated plants. However, when first true leaves were treated, a systemic effect of Immunotsitofit to the herbivore was absented. Detailed studies of the herbivore response on plants treated by immunomodulators, is necessary.

УДК 574.472:574.476

ЛИЧИНКИ ЖУЖЕЛИЦ (COLEOPTERA, CARABIDAE) В АГРОЦЕНОЗАХ КАРТОФЕЛЯ И ДРУГИХ КУЛЬТУР

А.Г. Коваль, О.Г. Гусева

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
agkoyal@yandex.ru, olgaguseva-2011@yandex.ru

Проведено сравнение распределения личинок жуужелиц в полевых севооборотах Северо-Запада России и Закарпатской области Украины. Несмотря на значительную географическую удаленность регионов проведения исследований, прослеживаются сходные тенденции распределения преимагинальных стадий жуужелиц в полевом севообороте. Максимальные показатели обилия (по результатам учетов с помощью почвенных ловушек) отмечены на полях клевера и озимых зерновых культур.

Ключевые слова: агроценозы, картофель, почвенные ловушки, жуужелицы, личинки, Северо-Запад России, Закарпатье.

Распределение личинок различных видов жуужелиц в агроландшафтах остается недостаточно изученным вопросом, что связано с большой трудоемкостью их сбора, а также сложностью определения видовой принадлежности. Однако нахождение личинок свидетельствует о размножении вида в конкретном биотопе. Поэтому значительный интерес представляет сравнение обилия личинок жуужелиц различных видов на полях севооборотов сельскохозяйственных опытных станций, когда культуры, характеризующиеся различными сроками сева, агротехникой и микроклиматом, расположены рядом и на относительно небольших, но выровненных по различным показателям участках.

Сбор имаго и личинок жуужелиц проводился в полевых севооборотах Закарпатя (Украина, Закарпатская область, Береговский р-н, с. Великая Бакта, поля Закарпатской областной сельскохозяйственной опытной станции, 1979–1981 гг.) и Северо-Запада России (Ленинградская обл., Гатчинский р-н, д. Меньково, поля Меньковской опытной станции Агрофизического НИИ, 2004–2011 гг.). Исследования проводились на полях различных сельскохозяйственных культур: яровых и озимых зерновых, многолетних трав (клевера и тимофеевки), однолетних трав (вики с овсом) и пропашных культур (картофеля и кукурузы на зерно), а также в примыкающих к полям полустественных биотопах (разнотравье и заросли кустарников).

Для оценки обилия жуужелиц в экспериментальных биотопах использовали почвенные ловушки, а на полях картофеля проводили также разбор почвенных проб. Определение большинства личинок жуужелиц было проведено И.Х. Шаровой и К.В. Макаровым (Московский государственный педагогический университет, Москва), которым

мы выражаем свою искреннюю благодарность. Более подробные исследования распределения личинок жуужелиц в агроландшафте, проводившиеся на Северо-Запада России в течение 8 лет, позволили выявить с помощью почвенных ловушек 27 видов личинок жуужелиц. В полевом севообороте Закарпатя за три года этим методом было выявлено 18 видов личинок указанных жесткокрылых.

В почвенные ловушки чаще всего попадают относительно крупные личинки, передвигающиеся и охотящиеся на поверхности почвы. Это – главным образом представители *Carabus*, *Broscus*, *Loricera*, *Anchomenus* и *Agonum*. Личинки из этих родов составили 81% от общего количества личинок, собранных с помощью почвенных ловушек в агроландшафте Северо-Запада и 78% – в агроландшафте Закарпатя.

Личинки из родов *Pterostichus*, *Poecilus*, *Anisodactylus* и *Harpalus* не часто выходят на поверхность почвы и попадают в ловушки значительно реже, несмотря на высокую плотность их особей (как имагинальной, так и личиночной стадий) в агроценозах. Так, в условиях Закарпатя личинки *Anisodactylus signatus* (Pz.) крайне редко регистрировались с помощью почвенных ловушек, однако систематически встречались при разборе почвенных проб, и составили 36% от общего количества отмеченных на полях картофеля личинок жуужелиц при учетах их данным методом. *Poecilus cupreus* (L.) является наиболее часто встречающимся видом в агроландшафтах Северо-Запада России [Гусева и др., 2015] и всегда относится к числу доминирующих на полях картофеля [Коваль, 2009]. Развитие личинок этого вида происходит главным образом в центральных частях полей [Wallin, 1988]. Однако личинки *Poecilus cupreus* не часто попадают в почвенные ловушки. Доля особей данной пре-

имагинальной стадии указанного вида на полях картофеля в Ленинградской области достигала 67% от общего количества личинок, собранных при разборе почвенных проб, при этом составила лишь 7% от общего количества личинок, отмеченных на полях картофеля с помощью почвенных ловушек. В условиях Ленинградской области самый высокий показатель уловистости личинок карабид зафиксирован на полях озимых зерновых культур – 1.45 особи на 10 ловушко-суток (л.-с.) и многолетних трав (клевера и тимофеевки) – 0.77 особи на 10 л.-с. Самая низкая их уловистость зарегистрирована на поле чистого пара, подвергнувшегося систематическим обработкам почвы (дискованию), – 0.10 особей на 10 л.-с. На полях картофеля получен промежуточный показатель – 0.28 особей на 10 л.-с.

Наибольшая плотность имаго жужелиц на поле картофеля регистрировалась в мае и августе, а личинок – в июне и августе (рисунок).

Наибольшее количество видов личинок жужелиц в Ленинградской области зарегистрировано на полях многолетних трав и картофеля. Так, имаго *Carabus nemoralis* O.F. Müll. регистрировались на полях картофеля не каждый год, а личинки этого вида – ежегодно, при этом доля личинок указанного вида составила 28% от общего количества собранных на опытных полях личинок карабид.

Исследования, проведенные в полевом севообороте в условиях Закарпатья, показали, что наиболее высокой динамической плотностью личинок жужелиц характеризуются поля клевера (0.80 особей на 10 л.-с.). Наименьшая уловистость личинок карабид отмечена на поле кукурузы

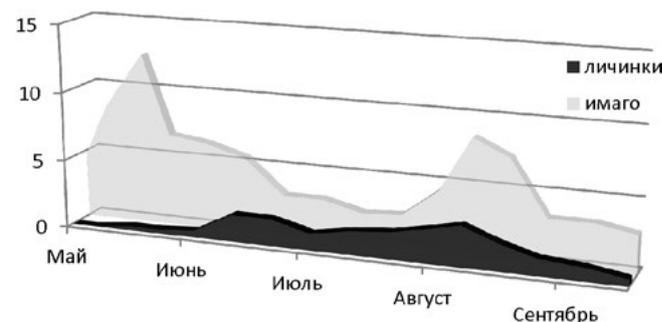


Рисунок. Плотность (экз. на кв. м.) жужелиц (Coleoptera, Carabidae) на картофельном поле низинной зоны Закарпатья (почвенные раскопки, Великая Бакта, 1980 г.).

на силос (0.02 особи на 10 л.-с.). На поле картофеля зарегистрированы промежуточные показатели – 0.20 особей на 10 л.-с.

Несмотря на значительную географическую удаленность и различные климатические условия, наблюдаются общие тенденции в распределении личинок многих массовых видов жужелиц в агроландшафтах. Самые высокие показатели обилия (по результатам учетов с помощью почвенных ловушек) отмечены на полях клевера и озимых зерновых культур. В агроценозе картофеля также зарегистрировано относительно высокое обилие личинок карабид, так как рыхлая почва гребней является благоприятным местом для откладки яиц и развития личинок многих видов этих энтомофагов.

Библиографический список (References)

Гусева О.Г., Коваль А.Г., Вяземская Е.О. Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) агроландшафтов Северо-Запада России и особенности их комплексов в различных агроценозах // Вестник защиты растений. 2015. № 4 (86). С. 20–26.

Коваль А.Г. Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) агроценоза картофеля европейской части России и сопредельных территорий. СПб: Русское

энтомолог. общество, 2009. 112 с. (Чтения памяти Н.А. Холодковского; Вып. 61, № 2)

Wallin H. The effects of spatial distribution on the development and reproduction of *Pterostichus cupreus* L., *P. melanarius* Ill., *P. niger* Schall. and *Harpalus rufipes* DeGeer (Col., Carabidae) on arable land // Journal of Applied Entomology. 1988. Vol. 106, N 5. P. 483–487.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 82–83

LARVAE OF GROUND BEETLES (COLEOPTERA, CARABIDAE) IN THE AGROCOENOSES OF POTATO AND OTHER CROPS

A.G. Koval, O.G. Guseva

All-Russian Institute of Plant Protection, agkoyal@yandex.ru, olgaguseva-2011@yandex.ru

The paper offers the comparison of the carabid larvae's distribution in crop rotation of Northwestern Russia and Transcarpathian Region of Ukraine. Despite of the vast geographic distance between the regions in question, they show similar trends of carabid preimaginal stages' distribution in crop rotation. The highest densities of carabid larvae (based on soil pitfall trapping) were observed in clover and winter cereal crops.

УДК 632.938.1

УСТОЙЧИВОСТЬ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ICARDA (СИРИЯ) К ВОЗБУДИТЕЛЯМ СЕТЧАТОЙ И ОКАЙМЛЕННОЙ ПЯТНИСТОСТЕЙ

Г.С. Коновалова, О.Н. Ковалева

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, office@vir.nw.ru

Целью данного исследования был поиск образцов с ювенильной устойчивостью к сетчатой (возбудитель – *Drechslera teres*) и окаймленной (*Rhynchosporium secalis*) пятнистостям ячменя. Материалом являлись 99 местных образцов ячменя из коллекции ICARDA (Сирия). В качестве инокулюма использовали 3 популяции *D. teres* (Краснодарский край, Дагестан, северо-запад РФ) и 1 популяцию (северо-запад РФ) *R. secalis*. Каждая популяция была представлена 20–30 изолятами

гриба. Устойчивость образцов оценивали при искусственном заражении отрезков листьев в лабораторных условиях. Достаточно высокая доля устойчивых форм характерна для ячменей из Эфиопии, Китая, Турции и Швейцарии. Выявили образцы, устойчивые к двум и трем популяциям патогена, а также образцы, обладающие групповой устойчивостью к 2-м патогенам. К южным популяциям (Краснодарский край и Дагестан) *D. teres* устойчивы 5 образцов; к географически отдаленным популяциям (Дагестан и северо-запад РФ, Краснодарский край и северо-запад РФ) – 7 форм. Групповой устойчивостью характеризовались образцы из Эфиопии (IG 17243), Швейцарии (IG 21136), Китая (IG 26072, IG 26155), Турции (IG 28591) и Индии (IG 37851). Среди них образец IG 28591 из Турции обладал ювенильной устойчивостью к трем популяциям *D. teres* и северо-западной популяции *R. secalis*.

Ключевые слова: ячмень, *Drechslera teres*, *Rhynchosporium secalis*, устойчивость, популяции, изоляты.

Сетчатая пятнистость, вызываемая грибом *Drechslera teres* Shoem. (Sacc.), и окаймленная пятнистость (ринхоспориоз), вызываемая грибом *Rhynchosporium secalis* (Oud.), являются одними из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний ячменя. Потери урожая восприимчивых сортов ячменя в отдельные годы могут достигать 40–60%. Одна из причин вредоносности этих патогенов – высокая изменчивость грибов, приводящая к возникновению более агрессивных патотипов и, соответственно, потере устойчивости некоторых сортов ячменя. Наиболее радикальным и экономически выгодным способом борьбы с этими патогенами является возделывание устойчивых сортов. Одним из возможных путей поиска доноров генов устойчивости является изучение местных образцов ячменя, среди которых зачастую находят источники новых генов устойчивости к заболеваниям. Материалом для исследования являлись 99 образцов ячменя, полученных из Международного института сельского хозяйства аридной зоны (ICARDA, Сирия). Целью работы было изучение ювенильной устойчивости ячменя к 3-м популяциям *D. teres* (Краснодарский край, Дагестан и северо-запад РФ) и к популяции *R. secalis* из северо-запада РФ. Каждая популяция была представлена 20–30 изолятами гриба. Устойчивость образцов оценивали при искусственном заражении отрезков листьев в лабораторных условиях. На

поверхность отрезков наносили капли водной суспензии гриба (5000–7000 спор/мл) *D. teres*. При инокуляции ячменя *R. secalis* использовали суспензию гриба (500–700 тыс. спор/мл). Устойчивость оценивали по методике О. С. Афанасенко [Афанасенко, 1977] и Г. С. Коноваловой [Коновалова, 2008].

Изучение образцов ячменя из Сирии по устойчивости к возбудителям сетчатой и окаймленной пятнистостей показало, что достаточно высокая доля устойчивых форм характерна для ячменей из Эфиопии, Китая, Турции и Швейцарии. Выявили образцы, устойчивые к двум и трем популяциям патогена, а также формы, обладающие групповой устойчивостью к 2-м патогенам. К южным популяциям *D. teres* (Краснодарский край и Дагестан) устойчивы 5 образцов; к географически отдаленным популяциям (Дагестан и северо-запад РФ, Краснодарский край и северо-запад РФ) – 7 форм. Групповой устойчивостью характеризовались образцы из Эфиопии (IG 17243), Швейцарии (IG 21136), Китая (IG 26072, IG 26155), Турции (IG 28591) и Индии (IG 37851). Среди них только образец IG 28591 из Турции обладал ювенильной устойчивостью к трем популяциям *D. teres* и к северо-западной популяции *R. secalis*. Выделенные образцы могут быть рекомендованы для использования в селекции на устойчивость к возбудителям сетчатой пятнистости и ринхоспориоза ячменя.

Библиографический список (References)

Афанасенко О.С. Лабораторный метод оценки устойчивости сортов образцов ячменя к возбудителю сетчатого гельминтоспориоз // Сельскохозяйственная биология. 1977. Т. 12. № 2. С. 293–299.

Коновалова Г.С. Ринхоспориоз. В кн.: Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М. 2008. С. 129–135.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 83–84

RESISTANCE OF BARLEY ACCESSIONS FROM ICARDA (SYRIA) TO NET BLOTCH AND SCALD

G.S. Konovalova

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, office@vir.nw.ru

The goal of this study was the search for the barley accessions with juvenile resistance to 99 (*Drechslera teres*) and 99 (*Rhynchosporium secalis*). Ninety nine barley landraces from Syria (ICARDA) were evaluated for resistance to net blotch (*D. teres*) and scald (*R. secalis*). For the inoculation three populations of *D. teres* from Krasnodar Region, Northwestern Region of Russia and Dagestan as well as one population of *R. secalis* from Northwestern Region of Russia were used. Each population included from twenty to thirty isolates. Resistance was assessed using artificial inoculation of cut leaves. A high frequency of the resistant plants was noted within the accessions from Ethiopia, China, Turkey and Switzerland. Accessions resistant to two and more populations of the same pathogen as well as with complex resistance to two pathogens are of interesting breeding material. Five accessions expressed resistance to *D. teres* populations originated from South Regions (Dagestan and Krasnodar) and seven accessions were resistant to geographically distanced *D. teres* populations from Dagestan, Krasnodar and Northwestern Region of Russia. Group resistance expressed the accessions from Ethiopia (IG 17243), Switzerland (IG 21136), China (IG 26072, (IG 26155), Turkey (IG 28591) and India (IG 37851). Among them, only one accession from Turkey (IG 28591) possesses juvenile resistance to three *D. teres* populations and to Northwestern population of *R. secalis*.

УДК 632.937

ВИРУЛЕНТНОСТЬ КЫРГЫЗСТАНСКИХ ПРИРОДНЫХ ИЗОЛЯТОВ АНАМОРФНЫХ АСКОМИЦЕТОВ В ОТНОШЕНИИ ЛИЧИНОК КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

Д.С. Конурова¹, М.В. Левченко², К.Т. Тургунбаев¹, Ш.Б. Смагулова³,
А.М. Успанов³, Г.Р. Леднёв²

¹Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, Бишкек, Кыргызстан, konurova.74@mail.ru

²Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

³Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан

В предгорьях внутреннего Тянь-Шаня выявлено два вида энтомопатогенных анаморфных аскомицетов – *Beauveria bassiana* и *Isaria farinosa*, при существенном доминировании первого из них. По признаку вирулентности на личинках колорадского жука среди изолированных культур доминировали средневирулентные формы.

Ключевые слова: Изолят, анаморфные аскомицеты, микроинсектициды, вирулентность, колорадский жук.

Использование биопрепаратов на основе энтомопатогенных микроорганизмов для снижения численности вредных членистоногих становится все более насущной проблемой в защите растений в связи с необходимостью экологизации земледелия.

К одной из наиболее перспективных групп энтомопатогенов, с точки зрения разработки биологических инсектицидов относятся грибы из анаморфных родов (Ascomycota: Нуротеалес). В Кыргызстане до недавнего времени исследования, посвященные разработке микроинсектицидов, практически не проводились. В связи с этим нами в 2010 году были инициированы работы по созданию коллекции энтомопатогенных грибов местного происхождения и скринингу изолированных культур по признаку вирулентности на наиболее значимых для республики вредителях с/х культур.

В результате проведенных исследований из биологического материала, собранного в Ошской области (внутренний Тянь-Шань) было выделено в чистую культуру 57 природный изолята анаморфных аскомицетов, из которых 61.5% был отнесен к *Beauveria bassiana* s.l. и 33% к *Isaria farinosa*. На следующем этапе исследований в лабораторных условиях была проведена первичная оценка вирулентности тридцати одного, рендомизированного отобранного, изолята грибов (21 – *B. bassiana* и 10 – *I. farinosa*) на личинках старших возрастов колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say). Насекомых заражали водной суспензией конидий с титром 10^7 спор/мл.

Проведенные наблюдения показали, что смертность тест-насекомых практически во всех вариантах опыта был существенно выше по сравнению с контролем. При этом выявлена значительная вариабельность изолятов по этому показателю. Итоговый уровень смертности (13-е сутки после заражения) варьировал в пределах от 28.6 до 100%. При этом по всей выборке культур существенно доминировали средневирулентные формы (уровень смертности 60–90%), доля которых превышала 51%. Удельный вес

высоковирулентных штаммов составил 25.8%. При этом в этой группе культур лучшими по скорости гибели личинок вредителя было четыре штамма (BCu113-11, Bm312-11, BLe48-11 и PCoc410-11). Для них уже через неделю после инокуляции уровень смертности варьировал в пределах от 92.5 до 100%.

Сравнительный анализ данных по вирулентности *B. bassiana* s.l. и грибов рода *I. farinosa* показал, что изоляты первой группы обладают более высокой биологической активностью в сравнении со второй. Так, если в первом случае доли высоко- и низковирулентных форм составили 33.3 и 9.6% соответственно, то во втором наблюдалась обратная картина – 10% и 40% (рис.).

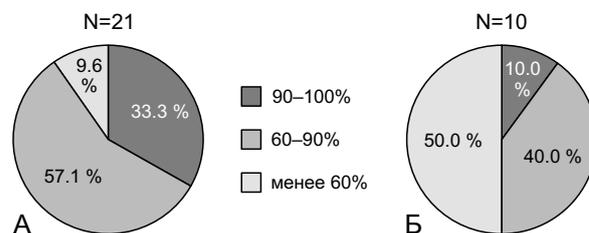


Рисунок. Соотношение культур анаморфных аскомицетов по признаку вирулентности на личинках колорадского жука
А – *B. bassiana* s.l.; Б – *I. farinosa*

Здесь особо следует отметить, что большинство энтомопатогенных анаморфных аскомицетов являются не специализированными видами [Гештофт, 2002]. Поэтому с большой долей вероятности можно говорить о том, что если конкретный штамм проявляет высокую биологическую активность на одном виде вредителя, то он будет высоковирулентным и к другим видам фитофагов [Крюков и др., 2009].

Таким образом, в качестве перспективных штаммов-продуцентов новых микроинсектицидов для контроля численности колорадского жука можно рекомендовать четыре штамма – BCu113-11, Bm312-11, BLe48-11 и PCoc410-11.

Библиографический список (References)

Гештофт Н.Ю. Энтомопатогенные грибы. Биотехнологические аспекты. Алматы, 2002. 288 с.

Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Левченко М.В., Леднев Г.Р., Глухов В.В. Фенотипическая изменчивость природных изолятов энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana*. //Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. N 6. С. 514–521.

VIRULENCE OF KYRGYZSTAN NATURAL ISOLATES OF ANAMORPHIC ASCOMITES FOR LARVAE OF THE COLORADO POTATO BEETLE

D.S. Konurova¹, M.V. Levchenko², K.T. Turgunbayev¹, Sh.B. Smagulova³, A.M. Uspanov³, G.R. Lednev²

¹*K.I. Skryabin Kyrgyz National Agrarian University, konurova.74@mail.ru*

²*All-Russian Institute of Plant Protection*

³*Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine*

In the foothills of internal Tien-Shan two species of entomopathogenic anamorphous ascomycetes – *Beauveria bassiana* and *Isaria farinosa* are revealed, at essential domination of the first of them. On the basis of virulence on larvae of the Colorado potato beetle among the isolated cultures middle-virulence forms dominated.

УДК 632.938.1

ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИИ ПУТЕМ ПИРАМИДИРОВАНИЯ НЕСКОЛЬКИХ ГЕНОВ С МАРКЕРНЫМ КОНТРОЛЕМ

П.И. Костылев¹, Е.В. Краснова¹, А.А. Редькин¹, Ж.М. Мухина², Е.В. Дубина²

¹*Всероссийский НИИ зерновых культур им. И.Г. Калиненко, Зеленоград, Россия, vniizk30@mail.ru*

²*Всероссийский НИИ риса, Краснодар, Россия*

Рис может значительно снизить урожайность зерна при поражении опасным заболеванием – пирикуляриозом. Поэтому актуальным является создание урожайных резистентных сортов риса, имеющих в одном генотипе несколько генов со своим вкладом. Использование молекулярных маркеров, сцепленных с генами устойчивости, облегчает селекционную работу. Цель работы – создание линий риса с пятью генами устойчивости к пирикуляриозу. Донорами генов устойчивости послужили линии зарубежной селекции, реципиентов – отечественные сорта. В работе использованы микросателлитные маркеры. На первом этапе работы получены 6 гибридов от скрещивания сортов Боярин и Вираз с донорами генов Pi-1, Pi-2, Pi-33. На втором этапе работы в процессе пирамидирования получены формы с тремя генами вместе. На третьем этапе добавлены гены Pi-ta и Pi-b. В результате с помощью маркерной селекции и ПЦР-анализа получены линии риса, совмещающие в своем генотипе пять эффективных генов устойчивости к этому патогену.

Ключевые слова: рис, донор, гибрид, пирикуляриоз, резистентность, селекция, ПЦР-анализ, маркер.

Болезни могут значительно снизить производство риса. Самой опасной из них является пирикуляриоз, вызывающий потери урожая в годы эпифитотий до 100%. Поэтому нужно выводить устойчивые сорта, имеющих в общем генотипе несколько генов со своим вкладом. Линии, совмещающие в себе несколько генов Pi, показывают значительное увеличение степени устойчивости к пирикуляриозу и представляют большую ценность при создании сортов. Резистентность к патогену представляет собой классическую систему ген-на-ген, где главный ген устойчивости эффективен против штаммов *Magnaporthe grisea*, содержащих соответствующий ген авирулентности [Silue et al., 1992]. Генетическими исследованиями было идентифицировано много генов устойчивости [Mackill, Vonman et al., 1992; Inukai et al., 1994]. Использование молекулярных маркеров, сцепленных с генами, обеспечивающими устойчивость растений к этому патогену, значительно облегчает селекционную работу в данном направлении. Методы ДНК-генотипирования и молекулярного маркерования позволяют ускорить перенос хозяйственно ценных генов в процессе селекции и обеспечить создание новых сортов с комплексом заданных свойств [Jena et al., 2003]. Поэтому актуальным является создание с помощью молекулярного маркирования урожайных сортов риса, резистентных к пирикуляриозу.

Целью работы являлось создание линий риса с 5-ю генами устойчивости к пирикуляриозу: Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b с помощью метода молекулярного маркирования.

Материал и методы. В качестве доноров генов устойчивости (материнская форма) использовали линии зарубежной селекции C104-Lac (Pi-1), C101-A-51 (Pi-2), C101-Lac

(Pi-1, Pi-33), IR-58 (Pi-ta), Мороберекан (Pi-b), реципиентов – отечественные сорта Боярин и Вираз. В работе использованы микросателлитные маркеры генов устойчивости.

Результаты. В процессе исследований на первом этапе работы в 2005 году были получены шесть гибридных комбинаций от скрещивания сортов Боярин и Вираз с тремя донорами устойчивости к пирикуляриозу, несущими гены Pi-1, Pi-2, Pi-33. Гибриды первого поколения были позднеспелыми и в значительной степени стерильными (90–95%), что указывает на большие генетические различия родительских форм из разных подвидов: индика и японика.

Во втором поколении из огромного спектра расщепления по многим признакам было отобрано по 22–30 растений, совмещающих в себе скороспелость, низкорослость, неосыпаемость и фертильность колосков. После ДНК-анализа среди 62 лучших линий во ВНИИ риса выделены гомозиготные формы по доминантным аллелям устойчивости. В третьем поколении гибридов удалось отобрать значительное количество гомозиготных образцов с доминантными генами устойчивости, в том числе и совмещающие два гена. На втором этапе работы (2008 г.) после скрещивания между собой гибридов (Pi-1+33 x Боярин) и (Pi-2 x Боярин) удалось получить формы с тремя пирамидированными генами одновременно: Pi-1, Pi-2, Pi-33 в гомозиготном состоянии. Это линии Ил.13, Ил.14 и Ил.28. Однако они не были пригодны для использования в качестве сортов, т.к. были позднеспелыми и недостаточно продуктивными. Их использовали для дальнейших скрещиваний. На третьем этапе работы (2010 г.), когда появились доноры генов Pi-ta (IR58 x Кубань 3) и Pi-b (Аметист x Мороберекан), проведена гибридизация с ними для объединения 5 генов.

Скращения были двух типов: [(Pi-1+2+33) x Pi-ta] x Pi-b и Pi-1+2+33 x (Pi-ta x Pi-b). Гибриды, показавшие гетерозиготность по всем пяти аллелям, были высеяны на F₂ в 2012 году и с лучших растений отобрали листья для анализа ДНК с использованием одного маркера по каждому из 5 генов [Костылев и др., 2014]. У всех гибридов расщепление по маркерам не укладывалось в рамки менделевского соотношения 1:2:1. Это связано с влиянием отбора, так как для анализа отбирали лучшие в селекционном отношении растения с безостыми фертильными колосками и хорошо вызревшим зерном.

По результатам анализа удалось выделить два образца риса (1225/13 и 1396/13), которые были гомозиготными по всем пяти доминантным аллелям. Повторные анализы листьев этих образцов в 2014–2015 гг. подтвердили эти результаты, т.е. гомозиготность по доминантным аллелям всех пяти локусов Pi-1+2+33+ta+b. Первая линия 1225/13 низкорослая (80 см), с небольшой метелкой (15 см), скороспелая – созревает за 110 дней. Вторая линия 1396/13

– более высокорослая (100 см), с крупной длинной метелкой (22 см), среднеспелая, период до созревания 120 дней. Кроме них, выделены 12 линий, имеющих все 5 генов, но некоторые из них в гетерозиготном состоянии. Из этих гибридов в последующие годы отобраны полные гомозиготные по доминантным аллелям устойчивости формы. Эти линии изучены в селекционном питомнике 2014–2015 гг. на урожайность, качество и устойчивость к пирикулярриозу. Проведен очередной цикл отборов лучших форм и их ПЦР-анализ. Перспективная линия 1396/13 размножена в 2015 году, получено 200 кг семян, которые будут высеяны в 2016 году на зараженных фонах для изучения устойчивости, продуктивности и качества.

Выводы. В результате многолетней работы по интрогрессии генов устойчивости к пирикулярриозу с помощью маркерной селекции и ПЦР-анализа получены пирамидированные линии риса, совмещающие в себе пять эффективных генов устойчивости к опасному патогену Pi-l, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b.

Библиографический список (References)

Костылев, П.И., Краснова Е.В., Редкин А.А., Мухина Ж.М., Дубина Е.В. Объединение в одном генотипе риса пяти генов устойчивости к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // 8-я Междунар. научно-практ. конф. «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем», г. Краснодар, 2014. С. 25–28.
Костылев, П.И., Шилов И.А., Мухина Ж.М. Перенос пяти генов устойчивости риса к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // Вестник РАСХН, 2014. 1. С. 33–35.

Inukai, T., Nelson R.J., Zeigler R.S., Sarkarung S., Mackill D.J., Bonman J.M., Takamura T., Kinoshita, T. Allelism of blast resistance genes in near-isogenic lines of rice // *Phytopathology*, 1994. 84. P. 1278–1283.
Jena K.K., Moon H.P., Mackill D.J. Marker assisted selection – a new paradigm in plant breeding // *Korean J. Breed.*, 2003. V.35. P. 133–140.
Mackill, D.J., Bonman J.M. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice // *Phytopathology*, 1992. 82. P. 746–749.
Silue, D., Nottoghem J.L., Tharreau D. Evidence for a gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa* – *Magnaporthe grisea* pathosystem // *Phytopathology*, 1992. 82. P. 577–580.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 86–87

INCREASE RESISTANCE TO RICE BY BLAST PYRAMIDING OF SEVERAL GENES WITH MARKER CONTROL

P.I. Kostylev¹, E.V. Krasnova¹, A.A. Redkin¹, Zh.M. Mukhina², E.V. Dubina²

¹All-Russian Research Institute of Grain Crops named after I.G. Kalinenko

²All-Russian Research Institute of Rice

Rice can significantly reduce grain yield in the defeat dangerous disease – blast. So urgent is the creation of yielding resistant varieties of rice with one genotype of several genes with their contribution. The use of molecular markers linked to resistance genes facilitates the selection work. Purpose – to create lines of rice with five resistance genes to blast. The donors of resistance genes were the lines of foreign selection, recipients – the Russian variety. We used microsatellite markers. In the first stage of the 6 hybrids obtained by crossing varieties of Boyarin and Virage with donor genes Pi-l, Pi-2, Pi-33. The second stage of the process obtained pyramiding shape with three genes together. In the third stage added genes Pi-ta and Pi-b. As a result, using the marker selection and PCR lines received rice, combining five effective resistance genes to this pathogen.

УДК 663.18

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕШЕНИИ ПРИРОДООХРАННЫХ ПРОБЛЕМ В ДФО

Л.Т. Крупская^{1,2}, Д.А. Голубев^{1,2}, М.Ю. Филатова¹

¹Тихоокеанский государственный университет, Хабаровск, Россия, ecoloiya2010@yandex.ru

²Дальневосточный НИИ лесного хозяйства, Хабаровск, Россия

Изложены результаты исследования проблемы использование биотехнологии в решении природоохранных проблем в Дальневосточном федеральном округе (ДФО). Цель исследования состояла в разработке способов реабилитации нарушенных земель (техногенных образований), в том числе хвостохранилищ, содержащих токсичные тяжелые металлы (ТМ), с использованием потенциала биологических систем для обеспечения экологической и социальной их безопасности. Методологической основой послужило учение академика В.И. Вернадского и основные положения, изложенные Б.П. Колесниковым и Н.В. Моториной в «Программе и методике изучения техногенных биогеоценозов». Выявлены экологические проблемы горного производства в ДФО. Теоретически, базируясь на публикациях российских и зарубежных ученых, а также наших собственных исследований, нами разработаны предложения для решения экологических проблем в горнодобывающей промышленности с использованием потенциала биологических объектов

(новизна подтверждена Патентами РФ). К ним относятся: мероприятия на этапе горно-подготовительных работ, переработки минерального сырья, для предотвращения трансформации и деградации экосистем (рекультивация), ликвидация их пыления путем посева трав, применения микроорганизмов, гуминовых препаратов, смешанного корокомпоста из коры ели, лиственницы и березы, фототрофных бактерий, а также в процессе очистки сточных промышленных вод с использованием потенциала биологических систем и организации биологического мониторинга изменения экосистем.

Ключевые слова: реабилитация, рекультивация, потенциал биологических систем, экологическая безопасность.

В процессе освоения минерального сырья в прошлом веке нарушены большие площади продуктивных земель, что привело к формированию техногенных систем и интенсивному техногенному загрязнению компонентов природной среды, а также к ухудшению экологической ситуации в границах влияния горного производства. Воздействие нарушенных горными работами земель является негативным фактором для здоровья населения горняцких поселков. Поэтому «сохранение природы должно стать императивом всей деятельности человека, в том числе и в первую очередь – его технологической активности». Не случайно, одной из центральных задач государственной политики РФ, в том числе Дальневосточного федерального округа (ДФО), в области экологического развития на период до 2030 года, является восстановление нарушенных естественных экологических систем, предусматривающее реализацию программ, направленных на минимизацию негативного влияния на окружающую среду и ликвидацию экологического ущерба, связанного с прошлой хозяйственной деятельностью, в том числе горнодобывающей промышленностью. Решение данной задачи способствует обеспечению достижения цели Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации до 2020 года по улучшению качества окружающей среды и экологических условий жизни человека. Поэтому цель исследования состояла в разработке способов реабилитации нарушенных земель (техногенных образований), в том числе хвостохранилищ, содержащих токсичные тяжелые металлы (ТМ), с использованием потенциала биологических систем для обеспечения экологической и социальной их безопасности. Определены следующие задачи:

1. Проанализировать и обобщить литературные данные по названной проблеме; 2. Выявить основные экологические проблемы горного производства в ДФО; 3. Разработать мероприятия по снижению негативного воздействия техногенных систем на окружающую среду с использованием биотехнологии.

Объектами исследования явились природно-горнопромышленные системы, сформировавшиеся в прошлом веке в результате горнопромышленной деятельности. Методологической основой послужило учение академика В.И. Вернадского [1989] и основные положения, изложенные Б.П. Колесниковым и Н.В. Моториной в «Программе и методике изучения техногенных биогеоценозов» [1978].

Анализ, обобщение и систематизация литературных данных свидетельствует о том, что в настоящее время начинается развиваться в России направление по использованию потенциала биологических систем в решении экологических проблем при освоении минерального сырья [Буриев, 1991; Клец, 1997; Тимофеева, 1999; Кравец и др., 2003; Зверева, 2007; Krupskaya and other, 2014, 2015 и др.]. В условиях горных предприятий Дальневосточного федерального округа эта проблема практически не изучена.

На основании проведенных исследований в течение 1998–2015 гг. в ДФО выявлены следующие экологические проблемы горного производства:

1. Высокая отходоёмкость горных производств;
2. Огромные площади нарушенных горными работами земель, в том числе загрязненных ртутью, а также хвостохранилищами, содержащими токсичные отходы и большое количество тяжелых металлов, заброшенными после отработки месторождения;
3. Очень низкие темпы проведения рекультивации;
4. Низкий уровень экологизации горных производств;
5. Низкая комплексность извлечения полезных компонентов и неэффективное использование запасов минерального сырья осваиваемых месторождений;
6. Устаревшая система экологических требований и необходимость ее реформирования;
7. Несовершенная нормативно-правовая база.

Одним из аспектов решения экологических проблем на горном предприятии является создание методов рекультивации с использованием биотехнологии. Современный этап научно-технического прогресса характеризуется революционными изменениями в биологии. Будущее применение биологического потенциала живых организмов в горном производстве перспективно, так как природные ресурсы планеты исчерпаны и необходимо, для поддержания устойчивого развития общества, разумно использовать и реализовать в технологии именно природные биохимические циклы.

Теоретически, базируясь на публикациях российских и зарубежных ученых, а также наших собственных исследований, с точки зрения возможности достижения гармонии в социобиотехносфере нами разработаны предложения для решения экологических проблем в горнодобывающей промышленности с использованием потенциала биологических объектов (новизна подтверждена Патентами РФ). Например, на этапе горно-подготовительных работ рекомендовано обеспечить минимальный уровень первичного негативного воздействия техногенной деятельности на верхнюю часть литосферы путем проведения анализа вещественного состава вскрышных пород, геоботанических признаков территории и биохимических показателей растений. Доказано, что при выполнении горных работ необходимо предусмотреть комплексное использование природных ресурсов в процессе освоения минерального сырья. Для предотвращения трансформации и деградации экосистем рекомендуется санитарно-гигиеническая рекультивация склонов отвалов, поверхности хвостохранилищ, предотвращение их пыления путем посева трав [Авт. свид. СССР, 1991], применение микроорганизмов, гуминовых препаратов [Патент, 2006], смешанного корокомпоста из коры ели, лиственницы и березы [Патент, 2013], фототрофных бактерий [Патент РФ, 2015]. При проявлении эрозийных процессов на отвалах предложено проведение биологической стабилизации нарушенных земель, предполагающей посев многолетних бобово-зла-

ковых травосмесей. Нашими исследованиями доказана возможность очистки сточных промышленных вод с использованием потенциала биологических систем [Патент РФ, 2014].

Кроме того, рекомендуется проводить контроль качества окружающей среды в границах влияния горных работ и хвостохранилищ путем организации биологического мониторинга, на основе наблюдений за организмами – биоиндикаторами, предполагающих определение техногенных нагрузок с использованием высокочувствительных тест-систем, концентраций загрязняющих веществ в биологических компонентах в данный отрезок времени

(микроорганизмы, растения), изучение процессов аккумуляции токсикантов в компонентах природной среды.

Внедрение принципиально новых технологий, разработанных нами (новизна подтверждена Патентами РФ), на горном предприятии, предусматривающих целевое применение биологических систем и процессов, позволяет обеспечить его социальную и экологическую безопасность, научно обосновать стратегические решения по устойчивому развитию районов горнопромышленного освоения в Дальневосточном федеральном округе. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №15-17-10016), ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный университет».

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 87–89

THE USE OF BIOTECHNOLOGY IN THE ENVIRONMENTAL CHALLENGES IN THE FAR EASTERN FEDERAL DISTRICT

L.T. Krupskaya^{1,2}, D.A. Golubev^{1,2}, M.U. Filatova

¹Pacific National University, *ecoloiya2010@yandex.ru*

²Far East Scientific-Research Institute of Forestry

The results of the research challenges of biotechnology in addressing environmental problems in the Far Eastern Federal District (FEFD). The purpose of the study was to develop methods of rehabilitation of disturbed lands (man-made structures), including tailings containing toxic heavy metals (HM), using the potential of biological systems for environmental and social safety. The methodological basis was the doctrine of Academician V.I. Vernadsky and guidelines set out B.P. Kolesnikov and N.V. Motorina in “Program and methods of the study of man-made ecosystems.” Identified environmental problems of mining in the Far Eastern Federal District. Theoretically, based on the publications of Russian and foreign scientists, as well as our own research, we have developed proposals to address environmental issues in the mining industry with the use of biological potential (novelty confirmed by the patent of the Russian Federation). These include activities at the stage of mining-preparatory works, mineral processing, to prevent the transformation and degradation of ecosystems (reclamation), prevent pollination by planting herbs, use of microorganisms, humic substances, mixed bark compost from the bark of spruce, larch and birch, phototrophic bacteria in the wastewater treatment industry using the potential of biological systems, the organization of biological monitoring changes in ecosystems.

УДК 632.937

ЭНТОМОПАТОГЕННЫЙ ШТАММ *BACILLUS THURINGIENSIS* 787

А.В. Крыжко, Л.Н. Кузнецова

НИИ сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия, *solanum@ukr.net*

Штамм *B. thuringiensis* 787 выделен из трупов гусениц *Malacosoma neustria* L., собранных в природе. Этот штамм не производит термостабильный β-экзотоксин, проявляет высокую инсектицидную активность против личинок *Leptinotarsa decemlineata* Say и *Galerucella luteola* L. Данный штамм, ранее идентифицированный как *B. thuringiensis* var. *shandongiensis*, перспективен для разработки микробиологических инсектицидов нового типа.

Ключевые слова: штамм, энтомопатоген, *Bacillus thuringiensis*, идентификация.

Бактерии *B. thuringiensis* широко используются в практике контроля листогрызущих насекомых-вредителей. Биопрепараты на их основе могут быть альтернативой химическим препаратам, так как обладают селективностью действия, безопасны относительно компонентов агроценоза. Таким образом, практическая и экологическая значимость *B. thuringiensis* обуславливает актуальность исследований по выделению и изучению новых высокоэффективных штаммов.

Из трупов гусениц кольчатого шелкопряда (*Malacosoma neustria* L.), собранных в природных популяциях, выделен штамм 787, который по способности к споро- и кристаллообразованию отнесен к бактериям *B. thuringiensis*. Штамм не продуцирует термостабильный β- экзотоксин.

Энтомопатогенное действие штамма 787 изучали на личинках колорадского жука младшего возраста (*Leptinotarsa decemlineata* Say, Coleoptera). В течение 10

суток гибель насекомых составила 100%, причем, более 50% насекомых (до 71.7%) погибло в течение 5-ти суток. Показана высокая эффективность штамма (82.4–100%) и против личинок ильмового листоеда (*Galerucella luteola* L.).

Для идентификации штамма 787 изучали его морфологические и физиолого-биохимические свойства по схеме А. Varjas, Е. Francon [1990] и А. Lysenko [1963]. Установлено, что при росте на мясо-пептонном агаре (МПА) бактерии образуют круглые или неправильной формы колонии с зубчатым краем, вязкие по консистенции, диаметром в среднем 6–10 мм. Рельеф колоний плоский, поверхность матовая, серовато-бежевого цвета с более светлой ареолой. Культуры быстрорастущие, появляются на поверхности МПА на вторые-третьи сутки. На стадии вегетативного роста образуют цепочки (до 7–13 клеток в цепочке). Окраска по Граму положительная. Размер клеток в

среднем составляет 6.48 ± 0.16 (большой диаметр) и 2.62 ± 0.06 (малый диаметр) мкм. Показано, что бактерии штамма 787 способны образовывать ацетил-метил-карбинол и лецитиназу. Обнаруживают способность к гидролитическому расщеплению крахмала. Зона гидролиза составляет 3.0–3.2 мм. Не используют цитраты. В качестве источника углерода усваивают сахарозу, глюкозу, маннозу и салицин, обладают протеолитической активностью. Проявляют способность к ферментации эскулина. Усваивают галактозу, ксилозу, арабинозу, целлобиозу, левулезу и рафинозу. Бактерии не образуют уреазу и пигменты. На мясо-пептонном бульоне образуют вуаль и пристенное кольцо, муть и осадок. Тест, проведенный на личинках комнатной

мухи (*Musca domestica* L.), показал отсутствие способности у штамма к продуцированию термостабильного экзотоксина. По исследованным характеристикам штамм 787 предварительно идентифицирован как штамм бактерий *B. thuringiensis* var. *shandongiensis*.

Учитывая, что при производстве биопрепаратов на основе *B. thuringiensis*, которые рекомендованы против листогрызущих вредителей Coleoptera и, в частности, колорадского жука, используются штаммы, содержащие термостабильный экзотоксин, выделенный штамм 787 может быть оригинальным для разработки биопрепаратов нового типа.

Библиографический список (References)

Barjac H. de, Francon E. Classification of *Bacillus thuringiensis* strains// Entomophaga, 1990. Vol. 35 N. (2). P. 233–240.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 89–90

Lysenko O. The taxonomy of entomogenous bacteria// Insect. Pathology, 1963. Vol. 2. P. 638–661.

ENTOMOPATHOGENIC STRAIN OF *BACILLUS THURINGIENSIS* 787

A.V. Kryzhko, L.N. Kuznetsova

Scientific Research Institute of Agriculture of Crimea, solanum@ukr.net

The strain of *B. thuringiensis* 787 was isolated from the dead caterpillars of *Malacosoma neustria* L., which was collected in natural populations. This strain doesn't produce a thermostable β -exotoxin. The strain showed a high insecticidal activity against young larvae of *Leptinotarsa decemlineata* Say and larvae of *Galerucella luteola* L.. According to the studied characteristics, the strain was 787 previously identified as a *B. thuringiensis* var. *shandongiensis*. Isolated entomopathogenic strain of *B. thuringiensis* 787 is perspective for development of biological preparations of novel type.

УДК 57.085.2

МОБИЛИЗАЦИЯ ОРТОФОСФАТА КАЛЬЦИЯ БАКТЕРИЯМИ РОДОВ *ADVENELLA* И *PSEUDOMONAS*

Л.Ю. Кузьмина, З.Г. Гуватова, В.И. Ионина, Н.Ф. Галимзянова, А.И. Мелентьев

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, ljuz@anrb.ru

Изучена способность бактериальных штаммов *Advenella* и *Pseudomonas* к мобилизации фосфора из нерастворимого ортофосфата кальция. Штаммы рода *Pseudomonas* характеризовались быстрой динамикой аккумуляции растворимых ионов фосфата в культуральной среде. Максимальная солубилизирующая активность была зарегистрирована для штамма *A. kashmirensis* IB Ki-1, что делает его применение многообещающим для целей улучшения фосфорного питания и стимуляции роста растений.

Ключевые слова: фосфатмобилизация, *Advenella kashmirensis*, *Pseudomonas extremaustralis*, *Pseudomonas mandelii*.

Фосфор является важнейшим биогенным элементом биосферы. Валовые запасы неорганического фосфора в почве достаточно велики, однако он находится в малодоступном для растений виде. В структуре первичных минералов фосфор представлен слаборастворимыми фосфатами кальция и марганца – в нейтральных или щелочных почвах, железа и алюминия – в кислых почвах. Улучшать биодоступность минеральных соединений фосфора из их суммарного почвенного пула способны почвенные микроорганизмы, одним из механизмов их действия является солубилизация фосфатов за счет выделения кислотных метаболитов [Whitelaw et al., 1999; Булавенко и др., 2000]. Интродукция фосфат-мобилизирующих микроорганизмов в ризосферу растений может стать одним из инструментов повышения доступности почвенного фосфора для растений.

Цель работы оценить способность некоторых штаммов грамтрицательных бактерий растворять ортофосфат кальция *in vitro*. Объектом исследований служили пять штаммов бактерий – представителей видов *Advenella kashmirensis* [Ghos et al., 2005], *Pseudomonas extremaustralis* [Ayub et al., 2004], *Pseudomonas mandelii* [Verhille et al., 1999] и штамм

Pseudomonas sp. Все штаммы были выделены из грунта пещеры Киндерлинская (Башкортостан). Для оценки способности бактерий мобилизовать фосфор использовали питательную среду с ортофосфатом кальция [Муромцев и др., 1985]. Штаммы микроорганизмов выращивали в колбах Эрленмейера со 100 мл питательной среды (160 мин^{-1}) при 28°C в течение 11 суток. Начальный титр штаммов составлял $2-9 \times 10^7$ КОЕ/мл. По окончании культивирования весовым методом определяли убыль $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Концентрацию фосфат-анионов определяли по методу Фиске-Суббароу (Унифицированные методы ..., 1971). Как видно из таблицы, штамм *A. kashmirensis* IB Ki-1 полностью разрушал ортофосфат кальция за 11 суток, при этом уровень pH лишь незначительно снижался в период между первыми и одиннадцатыми сутками культивирования (табл.). Штаммы рода *Pseudomonas* разрушали ортофосфат кальция на 61–74%. Следует отметить, что концентрация фосфат-анионов в культуральной жидкости на различных этапах культивирования не в полной мере характеризует достигаемую степень растворения ортофосфата кальция, однако дает возможность сравнивать штаммы между собой. Среди

псевдомонад максимальная трансформация $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ в растворимые формы была достигнута штаммом *P. mandelii* IB Ki-14.

Таким образом, большинство исследованных штаммов грамотрицательных бактерий показывали высокую степень солиubilизации малорастворимого ортофосфата кальция на завершающем этапе культивирования. Штаммы рода *Pseudomonas* характеризовались быстрой динамикой накопления растворимых фосфат-анионов в культуральной среде на начальной стадии культивирования (первые сутки) с последующим снижением их концентрации вследствие потребления доступного фосфора растущей культурой. Наиболее активным среди изученных культур являлся штамм

A. kashmirensis IB Ki-1, полностью трансформирующий ортофосфат кальция в растворимые формы после одиннадцати суток культивирования и показывающий стабильно высокую динамику накопления свободных фосфат-анионов. Среди представителей этого вида описан штамм *A. kashmirensis* subsp. *methylica* PK-1 [Порошина и др., 2015], выделенный из ризосферы осоки, что показывает потенциальную возможность успешной интродукции штамма *A. kashmirensis* IB Ki-1 в ризосферу сельскохозяйственных культур.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, грант № 14-04-97049.

Таблица. Динамика роста и освобождения фосфат иона изучаемыми штаммами

Штамм	1 сутки			11 сутки			Высвобождение фосфора из $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, %	Итоговая концентрация растворимых фосфатов, P_2O_5 , мг/л
	титр, КОЕ/мл	pH	P_2O_5 , мг/л	титр, КОЕ/мл	pH	P_2O_5 , мг/л		
<i>A. kashmirensis</i> IB Ki-1	2×10^8	4.8–4.9	190–218	4×10^7	4.4–4.5	438–470	100	916
<i>P. extremaustralis</i> IB Ki 13-2	4×10^9	5.9–6.0	261–264	5×10^9	5.6–5.7	76–77	74	696
<i>P. extremaustralis</i> IB Ki 13-1A	4×10^9	6.0–6.0	138–160	4×10^9	5.6–5.7	91–95	61	678
<i>P. mandelii</i> IB Ki-14	3×10^9	4.5–4.6	253–267	5×10^9	5.7–5.9	69–70	76	568
<i>Pseudomonas</i> sp. IB Ki-19	1×10^8	4.9–5.0	153–166	8×10^8	6.0–6.0	96–98	62	559

Библиографический список (References)

- Булаченко Л.В., Бега З.Т., Курдиш И.К. Мобилизация фосфора некоторыми микроорганизмами из труднорастворимых неорганосоединений // Бюллетень Института сельского хозяйства микробиологии, 2000. N 6. с. 55–56.
- Муромцев Г.С., Маршунцова Г.Н., Павлова В.Ф., Зольникова Н.В. // Успехи микробиологии, 1985. Т. 20. с. 174–198.
- Унифицированные методы анализа вод / под ред. Ю.Ю. Лурье. М.: Химия, 1971. 207 с.
- Порошина М.Н., Доронина Н.В., Капаруллина Е.Н., Троценко Ю.А. *Advenella kashmirensis* subspecies *methylica* PK 1 – факультативный метилотроф из ризосферы осоки // Микробиология, 2015. Т. 48. N 1. с. 90–97.
- Ayub N.D., Pettinari M.J., Ruiz J.A., López N.I. A Polyhydroxybutyrate-Producing *Pseudomonas* sp. Isolated from Antarctic Environments with High Stress Resistance. // Current microbiology, 2004. V. 49. p. 170–174.
- Ghosh W., Bagchi A., Mandal S., Dam B., Roy P. *Tetrathiothiobacter kashmirensis* gen. nov., sp. nov., a novel mesophilic, neutrophilic, tetrathionate-oxidizing, facultatively chemolithotrophic betaproteobacterium isolated from soil from a temperate orchard in Jammu and Kashmir, India // International J. of Systematic and Evolutionary Microbiol, 2005. V. 55. p. 1779–1787.
- Whitelaw M.A., Harden T.J., Helyar K.R. Phosphate solubilization in solution culture by the soil fungus *Penicillium radicum* // Soil Biology and Biochemistry, 1999. V. 31. N 5. p. 655–665.
- Verhille S, Baida N., Dabboussi F., Izard D., Leclerc H. Taxonomic study of bacteria isolated from natural mineral waters: proposal of *Pseudomonas jessenii* sp. nov. and *Pseudomonas mandelii* sp. nov. // Syst. Appl. Microbiol, 1999. V. 22. N. 1. p. 45–58.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 90–91

THE MOBILIZATION OF CALCIUM ORTHOPHOSPHATE BY BACTERIA FROM *ADVENELLA* AND *PSEUDOMONAS* GENERA

L.Y. Kuzmina, Z.G. Guvatova, V.I. Ioannina, G.E. Aktuganov, N.F. Galimzyanova, A.I. Melentev

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, ljku@anrb.ru

The ability of bacterial strains from genera *Advenella* and *Pseudomonas* to mobilize phosphorus from insoluble calcium orthophosphate was evaluated. The strains of the genus *Pseudomonas* were characterized with rapid dynamics of accumulation of soluble phosphate anions in the culture medium following to decrease of its concentration due to the consumption of available phosphorus by growing culture. Maximal solubilizing activity was detected in the strain *A. kashmirensis* IB Ki-1, which makes its application promising for the purpose of improvement in phosphorus nutrition and growth promoting of plants.

УДК 631.46:579.64

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ РИЗОБИАЛЬНЫХ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ НА СЕМЕНА И ПРОРОСТКИ КЛЕВЕРА КРАСНОГО (*TRIFOLIUM PRATENSE*)

А.М. Лавина, Л.Р. Нигматуллина, З.Р. Вершинина, Ал.Х. Баймиев

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, owlwoman@mail.ru

Полученные данные подтверждают предположение, что синтез полисахаридов, стимулирующих симбиотические взаимоотношения, могут способствовать адаптации к меняющимся условиям окружающей среды штаммов *Rhizobium* и эффективно взаимодействовать с бобовыми растениями, внося вклад в их рост и прорастание.

Ключевые слова: *Rhizobium*, ризобии, экзополисахариды (ЭПС), биоудобрения, ростостимулирующая активность.

Сложные и специфичные взаимодействия между клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* и их рас-

тениями-хозяевами являются частью многоэтапного процесса координированного взаимодействия бакте-

рий и растений, в ходе, которого происходит обмен молекулярными сигналами между партнерами, приводящий к дифференциальной экспрессии генов у обоих симбионтов. В результате такого взаимодействия образуются азотфиксирующие клубеньки. Для правильного развития клубеньков требуется синтез и восприятие сигнальных молекул. Показано, что на ранних этапах симбиоза роль специфических сигнальных факторов у бактерий играют липохитоолигосахариды (Nod- факторы). Синтез Nod-факторов необходим, но недостаточен для морфогенеза клубеньков. Не менее важным фактором при образовании клубенька является синтез бактериями экзополисахаридов (ЭПС). Исследования штаммов с нарушенным синтезом ЭПС позволило выдвинуть предположение об их участии в узнавании макросимбионтов, а также в сигнальных процессах при дифференцировке бактериальных и растительных клеток. Кроме того накопленные данные свидетельствуют о том, что экзополисахариды вовлечены в инфицирование и образование клубеньков, в процесс бактериального освобождения от инфекционных нитей, развития бактериоидов, подавления реакции защиты растений и синтеза ими противомикробных соединений. Согласно результатам, полученным при исследовании влияния штаммов ризобий на всхожесть семян различных растений, показано что инокуляция растений штаммами ризобий, синтезирующими экзополисахариды значительно увеличивает всхожесть семян и рост проростков растений. В виду этого целью данной работы являлось создание и исследование свойств симбиотической системы клевера с ризобиями, у которых были идентифицированы исследуемые гены клубеньковых бактерий, регулирующие биосинтез экзополисахаридов.

В качестве объекта исследования был выбран клевер красный (*T. pratense*), так как этот сорт отличается высокой степенью всхожести и устойчивостью к болезням. Для данного исследования нами были выбраны следующие гены: *pssA*, *pssB*, *rosR*, *prsD*, *prsE*, так как данные гены хорошо изучены, участвуют в синтезе экзополисахаридов и процессах сигналинга, а также формировании клубеньков. Для определения наличия у исследуемых штаммов ризобий генов экзополисахаридов нами был проведен скрининг 34 штаммов *R. leguminosarum*. В результате скрининга были выявлены 5 штаммов ризобий, у которых были идентифицированы все исследуемые нами гены, участвующие в биосинтезе экзополисахаридов.

С целью анализа влияния ризобий, на семена клевера, нами была проведена оценка ростостимулирующего эффекта 2 штаммов *Pseudomonas aureofaciens*, 1 штамма *R. galegae* и 7 штаммов *R. leguminosarum*, один из которых являлся природным симбионтом *T. pratense*. У 5 из 7 штаммов были идентифицированы все исследуемые гены, ответственные за синтез экзополисахаридов. Для того чтобы избежать негативного воздействия на исследуемые растения, были проведены опыты по инокуляции растений различными концентрациями ризобий. Таким образом, были выявлена оптимальная концентрация, при которой штаммы обладают ростостимулирующим эффектом, не оказывая негативного влияния на растения клевера – 10⁴

КОЕ/мл. Далее семена инокулировали суспензией данных штаммов. Через неделю подсчитывали процент всхожести семян, а также длину корней и гипокотилей растений.

Выбранные нами семена клевера показали довольно высокую всхожесть 93.3%. Было выявлено, что инокуляция семян клевера штаммами ризобий, у которых были идентифицированы исследуемые нами гены, ответственные за синтез экзополисахаридов в большинстве случаев благоприятно влияли на всхожесть растений клевера. Всхожесть при их применении достигла 100%, что можно объяснить синтезом ризобиями экзополисахаридов и фитогормонов согласно результатам, полученным зарубежными авторами при исследовании влияния штаммов ризобий на всхожесть семян различных бобовых растений. Однако в 2х случаях мы отметили ухудшение всхожести семян клевера (на 3% и 13% ниже показателя контрольных растений). Это явление может быть связано с тем, что растения клевера были инокулированы высокой концентрацией ризобий, это и оказало негативное воздействие на растения.

Далее нами было показано положительное влияние исследуемых штаммов ризобий на рост проростков клевера красного. При анализе длины корней проростков мы отметили, что растения, обработанные *P. aureofaciens* показали меньшую длину корней проростков (от 17 до 37%), чем растения, инокулированные штаммом *R. galegae* (39%). Инокуляция семян клевера ризобиями, у которых были идентифицированы все исследуемые нами гены, участвующие в биосинтезе экзополисахаридов приводит к увеличению длины корней проростков (от 7 до 53% больше контрольных). Значения длин гипокотилей проростков, инокулированных ризобиями, синтезирующими экзополисахариды, также были значительно больше по сравнению с контролем, в том числе и обработанные *R. galegae* (на 72%). Опытные проростки были длиннее контрольных на 38%–103%, в зависимости от того каким штаммом было обработано растение. Однако эти значения были меньше тех, что получены при обработке растений *P. aureofaciens* максимум на 16%. Значения показателей природного симбионта красного клевера указывают на то, что обработка бобовых растений «дикими» штаммами, обладающими ростостимулирующим эффектом приводит к увеличению всхожести растений и их росту. В многочисленных работах по изучению, влияния ризобий на увеличение длины проростков различных растений, было доказано, что ризобии выделяют ростостимулирующие гормоны (индол-3-уксусную кислоту, цитокинины и гиббереллины), а синтез ими экзополисахаридов, способствует прикреплению ризобий к поверхности корней и их выживанию. Полученные данные подтверждают предположение о том, что синтез различных активизирующих симбиоз полисахаридов может позволить ризобияльным штаммам адаптироваться к изменяющимся условиям окружающей среды и эффективно взаимодействовать с бобовыми растениями, способствуя их росту и всхожести.

Исследования проводились при финансовой поддержке грантов РФФИ-Поволжье № 14-04-97005 РФФИ-мол_а № 16-34-01076, РФФИ-Инициативный № 16-04-00902 А.

THE ANALYSIS OF THE IMPACT OF RHIZOBIAL EXOPOLYSACCHARIDES ON SEEDS AND SEEDLINGS OF THE RED CLOVER (*TRIFOLIUM PRATENSE*)

A.M. Lavina, L.R. Nigmatullina, Z.R. Vershinina, A.I.K. Baymiey

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, owlwoman@mail.ru

The obtained data support the assumption that the synthesis of a variety activating symbiosis polysaccharides can afford to adapt to changing environmental conditions to *Rhizobium* strains and to interact effectively with leguminous plants, contributing to their growth and germination.

УДК 579.26

ЭНТОМОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЖУКОВ-КОРОЕДОВ В ПРЕДГОРЬЯХ ЗАИЛИЙСКОГО АЛАТАУ

Г.Р. Леднёв¹, Р. Абдукерим², А.М. Успанов³, М.Н. Сабитова¹, А.С. Каменова³,
М.В. Левченко¹, Б.А. Дуйсембеков³

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, georgijled@mail.ru

²Казахский национальный аграрный университет Алматы, Казахстан, rauza91@mail.ru

³Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан, ualibek@mail.ru

В популяциях жуков-короедов в предгорьях Заилийского Алатау традиционными и молекулярно-генетическими методами выявлено четыре вида энтомопатогенных анаморфных аскомицетов – *Beauveria pseudobassiana*, *B. bassiana*, *Isaria farinosa* и *Paecilomyces* sp., при существенном доминировании первого из них.

Ключевые слова: анаморфные аскомицеты, ксилофаги, *Beauveria*, *Isaria*.

Одним из перспективных приемов снижения численности жуков-короедов (Curculionidae, Scolytinae) – опаснейшей группы вредителей – ксилофагов хвойных лесов является использование биопрепаратов на основе энтомопатогенных аскомицетов из анаморфных родов (Ascomycota, Neurosporales). Представители данной группы filamentных грибов достаточно широко распространены в популяциях различных видов жуков-короедов практически во всех лесных экосистемах Евразии [Wegensteiner et al., 1989], а исследования, посвященные разработке микоинсектицидов для подавления численности этих вредителей, проводятся во многих странах [Battay, 2007; Kreutz et al., 2004]. В Казахстане работы в этом направлении до недавнего времени практически не велись.

В этой связи нами были проведены исследования по изучению энтомопатогенной микобиоты жуков-короедов в предгорной зоне Заилийского Алатау. Маршрутные обследования проводились в мае-августе 2015 года в нескольких точках урочища Медеу (государственном природном парке «Медеу») на высоте 1300–2000 м (43.1° с.ш., 76.6° в.д.). В местах складирования древесины ели тянь-шаньской были обнаружены значительные очаги целевой группы ксилофагов (до 20 особей/дм²), в которых существенно доминировал короед Гаузера (*Ips hauseri*) (более 90%). Практически на всех проанализированных стволах, под корой, в небольшом количестве встречались имаго вредителей с

явными признаками микозов. В итоге, было собрано более сорока подобных особей, из которых в чистую культуру (на модифицированную среду Сабуро) выделено тридцать пять изолятов анаморфных аскомицетов. Анализ видового состава изолированных культур по морфологическим признакам показал, что, по крайней мере, тридцать три из них относятся к энтомопатогенным видам. При этом большая часть изолятов была отнесена к *Beauveria bassiana* sensu lato, другие культуры – к роду *Isaria* (= *Paecilomyces*). Поскольку в последнее время в связи с активным использованием молекулярно-генетических методов в систематике изучаемых грибов произошли значительные изменения, то для уточнения таксономического статуса изолированных культур был проведен ПЦР-анализ по локусу ядерной ДНК – *tef* (фактор элонгации трансляции *Efla*) (табл.). В результате была выявлена четкая дивергенция первого вида на два таксона видового ранга – *B. bassiana* и *B. pseudobassiana* при существенном доминировании второго из них. Три культуры были отнесены к *I. farinosa*, а для двух других изолятов видовую принадлежность в пределах рода *Paecilomyces* установить не удалось. Таким образом, среди выделенных культур подавляющее большинство относится к *B. pseudobassiana* (69.7%), на втором месте по встречаемости – *B. bassiana* (15.2%) (рис.).

Аналогичный групповой состав энтомопатогенных анаморфных аскомицетов на жуках-короедах характе-

Таблица. Каталог молекулярных гаплотипов *tef*, характеризующих штаммы анаморфных аскомицетов, изолированных из имаго короеда Гаузера в урочище Медеу (Заилийский Алатау) в сравнении с записями, доступными в Генбанке

Вид гриба	Гаплотип	Типовой штамм в Генбанке	Номер доступа в Генбанке	Эталонный штамм рабочей выборки, кол-во	Уровень сходства с типовым штаммом из Генбанка, %
<i>B. bassiana</i> sensu stricto	A (7518)	ARSEF 7518	HQ880975	BbSc1-15 (3)	100
	B (10/72)	EABb 10/72	KJ473860	BbSc ₂ -15 (2)	100
<i>B. pseudobassiana</i>	A (1564)	ARSEF 2997	HQ881000	BpSc ₁ -15 (15)	100
	B (6229)	ARSEF 6229	HQ881001	BpSc ₁₆ -15 (8)	100
<i>I. farinosa</i>	A (1852)	ARSEF 4029	HQ881019	ISc ₁ -15 (3)	100
<i>Paecilomyces</i> sp.	A (1849)	ARSEF 1849	KC242682	Inc ₁ -15 (2)	100

рен и для некоторых стран Европы [Takov et al., 2006; Wegensteiner et al., 1989]. Анализ высотного распределения выявленных таксонов показал, что *B. bassiana* был обнаружен только в обследованных точках расположенных ниже 2000 м (1300 и 1900 м). Здесь доля данного вида составила 45.5%. На площадке, находящейся выше (2000 м), где было собрано наибольшее количество образцов (более 60%) среди грибов рода *Beauveria* был отмечен только *B. pseudobassiana*. Для двух других выявленных видов, из-за малого количества выделенных культур, подобной закономерности обнаружено не было. Оценка внутривидовой структуры выявленных таксонов показала, что оба вида рода *Beauveria* представлены двумя гаплотипами, а остальные – по одному (табл.). В целом, представленные

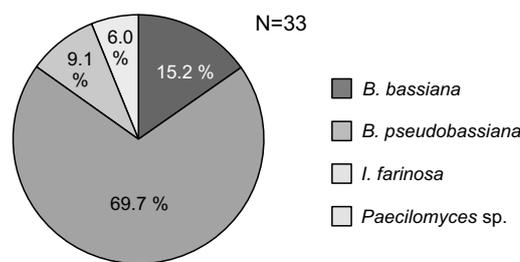


Рисунок. Структура видового состава энтомопатогенных анаморфных аскомицетов, изолированных из имаго жуков-короедов

данные свидетельствуют о том, что возбудители микозов достаточно широко представлены в популяциях жуков-короедов в урочище Медеу.

Библиографический список (References)

- Battay A. Biocontrol of almond bark beetle (*Scolytus amygdali* Geurin-Meneville, Coleoptera: Scolytidae) using *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) // Journal of Applied Microbiology, 2007. V.103, N 5. P. 140–141.
- Kreutz J., Vaupel O., Zimmermann G. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the spruce bark beetle, *Ips typographus* L., in the laboratory under various conditions // Journal of Applied Entomology, 2004. V. 128, N 6. P. 384–389.
- Takov D., Pilarska D., Wegensteiner R. Entomopathogens in *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) from several spruce stands in Bulgaria // Acta zoologica bulgarica, 2006. V. 58, N 3. P. 409–420.
- Wegensteiner R., Weiser J., Führer E. Observations on the occurrence of pathogens in the bark beetle *Ips typographus* L. (Coleoptera, Scolytidae) // Journal of Applied Entomology, 1996. V. 120. P. 199–204.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 93–94

ENTOMOPATHOGENIC FUNGI IN BARK BEETLES POPULATIONS FROM ZAILIYSKY ALATAU

G.R. Lednev¹, R. Abdukerim², A.M. Uspanov³, M.N. Sabitova¹, A.S. Kamenova², M.V. Levchenko¹,
B.A. Duisembekov³

¹All-Russian Institute of Plant Protection

²Kazakh National Agrarian University, rauza91@mail.ru

³Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine

In populations of bark beetles in the foothills of Zailiysky Alatau traditional and molecular-genetic methods have revealed four species of entomopathogenic anamorphous fungus – *Beauveria pseudobassiana*, *B. bassiana*, *Isaria farinosa* and *Paecilomyces* sp. at essential domination of the first of them.

УДК 581.1

ИЗУЧЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ГОРОХА К ФИТОПАТОГЕНАМ И СИМБИОЗ С ГРИБАМИ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ

И.В. Лепянен, Н.А. Вишневская, Е.А. Долгих

Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, dol12helen@yahoo.com

Целью работы являлось изучение функции рецепторной киназы PsLYK9 – наиболее вероятного кандидата на роль рецептора к хитоолигосахаридам (ХОС) у гороха *Pisum sativum* L. Рецепторная киназа PsLYK9 у гороха активируется в ответ на обработку ХОС с разной степенью полимеризации. Было установлено, что растения с подавлением экспрессии гена *PsLyk9* в результате РНК интерференции, оказались более чувствительными к заражению слабопатогенным штаммом гриба *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891. Снижение устойчивости к заражению коррелировало с пониженным уровнем экспрессии генов, кодирующих защитные белки и ферменты (PsPR10, PsPR1, PsPAL2). Вместе с тем, у растений с подавленной экспрессией *PsLyk9* в ответ на обработку ХОС (n = 5), выделяемых грибами арбускулярной микоризы (АМ), наблюдалось значительное снижение экспрессии генов, являющихся маркерами развития симбиоза с грибами АМ (DRP, RAM1, NSP2, DELLA). Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что PsLYK9 является наиболее вероятным гомологом рецептора растений CERK1, который при формировании комплексов с разными ко-рецепторами, контролирует развитие устойчивости к фитопатогенам и формирование АМ симбиоза. Изучение принципов работы такого рецептора станет в дальнейшем основой для разработки научно-обоснованных подходов, направленных на управление системой устойчивости растений или повышение симбиотической эффективности.

Ключевые слова: LysM-рецепторы, хитоолигосахариды, симбиоз, защитные реакции.

В основе развития устойчивости растений к фитопатогенным грибам или, напротив, формирования симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (АМ), лежит их способность узнавать похожие по структуре сигнальные мо-

лекулы микроорганизмов. Хитоолигосахариды (ХОС) со степенью полимеризации (n = 6–8) являются элиситорами защитных систем растения. Напротив, ХОС со степенью полимеризации n = 4–5 выделяются грибами АМ и играют

ключевую роль в развитии внутриклеточного симбиоза. Для выяснения того, как растения различают столь сходные по структуре сигнальные молекулы, большой интерес представляет поиск, а также изучение структурной организации и функционирования рецепторов растений, отвечающих за связывание ХОС.

У отдельных растений, таких как рис и арабидопсис, были выявлены первые рецепторные белки, контролирующие реакции растений на ХОС. Среди них *OsCERK1* риса, и *AtCERK1* арабидопсиса. Известно, что *AtCERK1* арабидопсиса контролирует развитие только защитных реакций, поскольку это растение не формирует симбиоз с грибами арбускулярной микоризы. Напротив, *OsCERK1* риса выполняет двойную функцию – контролирует развитие как защитных, так и симбиотических реакций при формировании комплексов с различными ко-рецепторами. Бобовые растения представляют особый интерес для изучения рецепторов к ХОС, поскольку способны взаимодействовать как с фитопатогенными грибами, так и вступать в симбиоз с грибами АМ. Однако таких рецепторов в настоящее время у бобовых растений не выявлено.

Объектом наших исследований был горох посевной *Pisum sativum* L. На основании проведенного филогенетического анализа наиболее близким гомологом CERK1 у модельного бобового растения *Medicago truncatula* Gaertn., геном которого в настоящее время расшифрован, является рецептор *MtLYK9*. Мы предположили, что ген *MtLYK9*, а также его гомолог у гороха может кодировать рецептор, контролирующий развитие ответных реакций на ХОС.

На первом этапе работы был проведен поиск и идентификация полноразмерной последовательности гена *Lyk9* у гороха. Для изучения функции гена *PsLyk9* у гороха была получена генетическая конструкция для РНК-интерференции. У трансгенных растений гороха линии Finale, трансформированных данной конструкцией, подавление экспрессии гена *PsLyk9* составило около 80%. У растений с подавленной экспрессией гена *PsLyk9* было выявлено снижение уровня экспрессии генов, кодирующих защитные ферменты и белки (*PsPAL2* и *PsPR10*), в ответ на обработку хитоолигосахаридами (ХОС, n=8). Более того, нами было выявлено у таких растений увеличение уровня заболеваемости при заражении слабопатогенным штаммом грибов *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891.

Вместе с тем, у растений с подавленной экспрессией *PsLyk9* в ответ на обработку короткими ХОС (n=5) наблюдалось значительное снижение экспрессии генов, являющихся маркерами развития симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (*DELLA*, *NSP2*, *DRP*, *RAM1*).

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод том, что что *PsLYK9* контролирует развитие защитных реакций гороха как в ответ на обработку элиситорами (ХОС n=8), так и на заражение фитопатогенным грибом, а также участвует в развитии симбиоза с грибами арбускулярной микоризы и, вероятно, контролирует ответные реакции растения на обработку короткими ХОС (n=5).

Следовательно, рецептор *PsLYK9* является CERK1-подобным рецептором у гороха, который при связывании ХОС контролирует развитие как защитных, так и симбиотических реакций.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 94–95

STUDYING RECEPTORS CONTROLLED OF RESISTANCE DEVELOPMENT TO PATHOGENS AND FORMING OF SYMBIOSIS WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN PEA

I.V. Leppyanen, N.A. Vishnevskaya, E.A. Dolgikh

All-Russia Institute for Agricultural Microbiology, dol12helen@yahoo.com

The main goal of the work was to identify and study the function of receptor kinase *PsLYK9* – a candidate for the role of the receptor to chitoooligosaccharide signals in *Pisum sativum* L. Consequently, the new receptor kinase *PsLYK9* was found in pea. The plants with the suppression of this gene expression as a result of RNA interference were more susceptible to infection with phytopathogenic fungus *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891. Reducing resistance to infection correlates with reduced expression of genes encoding protective proteins and enzymes (*PsPR10*, *PsPAL2*). However, in plants with repressed *PsLyk9* expression a significant decrease in the expression levels of genes that are markers of symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (*DELLA*, *NSP2*, *DRP*, *RAM1*) was observed. These results allow us to conclude that *PsLYK9* is the most likely homolog to plant receptor CERK1, in which the formation of complexes with various co-receptors controls the development of resistance to phytopathogens and formation AM symbiosis. The study of the principles of such receptor operation will be further a basis for the development of evidence-based approaches to the manipulation of the resistance system of legume plants or increasing symbiotic efficiency.

УДК 579.64

ВЛИЯНИЕ *BACILLUS MEGATERIUM* 501 НА РОСТ РАСТЕНИЙ КУКУРУЗЫ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА

Т.О. Лисина, Ю.В. Круглов

Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, lisina-to@yandex.ru

В вегетационном опыте изучено влияние *Bacillus megaterium* 501 на выживаемость растения кукурузы в условиях высокотемпературного стресса и применения гербицида атразина. Показано, что повышенная температура провоцирует развитие в ризосфере микромицетов *Penicillium citrinum* и *Penicillium rubrum* – продуцентов фитотоксинов, вызывающих

гибель растений. Атразин не оказывал существенного влияния на рост растений и численность фитопатогенов. Установлено, что *B. megaterium 501* является антагонистом фитотоксичных микромицетов. Инокуляция почвы культурой *B. megaterium 501* оказывала протекторное действие на растения и ускоряла деградацию гербицида атразина.

Ключевые слова: высокотемпературный стресс, гербицид атразин, инокуляция, микромицеты, фитотоксичность.

В практике сельского хозяйства большой проблемой является снижение урожайности растений вследствие поражения их возбудителями заболеваний. На численность фитопатогенных и токсинообразующих почвенных микроорганизмов могут влиять, наряду с другими, гидротермические факторы внешней среды. Известно, что понижение или повышение температуры воздуха на фоне увлажненного грунта приводит к увеличению заболеваемости растений [Доброзракова, 1974]. Остатки гербицидов в почве тоже могут угнетающе действовать на рост и развитие растений, чувствительных к ним, в связи с чем стоит проблема их детоксикации. Кроме химических средств защиты растений все чаще применяются биологические – на основе микроорганизмов – агентов биоконтроля.

Ранее нами был выделен штамм *Bacillus megaterium 501* – деструктор ряда пестицидов, стимулятор роста и развития растений, обладающий антифунгальным действием в отношении ряда микромицетов [Лисина и др., 2001, 2004; Круглов, Лисина, 2014]. Показано, что инокуляция этим штаммом повышала устойчивость растений овса и кукурузы при выращивании на почве, загрязненной прометрином, ускоряя его деградацию [Лисина, 2009].

В настоящей работе представлены результаты опытов, проведенных с целью изучения влияния *B. megaterium 501* на состояние растения кукурузы, выращиваемой на фоне температурного и гербицидного стресса.

Вегетационные опыты проводили при температуре 20 ± 2 и 33 ± 3 °С. Дерново-подзолистую почву, увлажненную до 50% от полной влагоемкости, расфасовывали в керамические сосуды. Схема опыта включала в себя варианты с гербицидом атразином и без него, с инокуляцией и без нее. Атразин вносили в дозах 1.5 и 5 мг/кг (по д. в.). Почву инокулировали 2-х суточной жидкой культурой *B. megaterium 501*. Исходная нагрузка инокулята составила 1.5×10^7 КОЕ /г почвы. Семена кукурузы высевали через сутки после внесения гербицида. Оценивали состояние растений и численность *B. megaterium 501* в ризосфере, а также содержание атразина в почве.

Через две недели после всходов на стадии 3-х листьев во всех вариантах опыта (и в безгербицидном, в том числе), началось частичное отмирание растений, выращиваемых при 34 °С. Через месяц выживаемость растений в контрольных вариантах (без инокуляции) в случае с атразином и без него составила 25%.

При выращивании растений кукурузы при температуре 20 °С наблюдалось нормальное их развитие.

Визуальный анализ состояния корневой системы погибших растений выявил наличие грибного мицелия и розовую пигментацию семян, которая отсутствовала у семян здоровых растений. В результате микологического анализа почвы из зоны пораженных растений выделено два доминирующих микромицета: *P. citrinum* и *P. rubrum*. Последний при выращивании на питательной среде выделял ярко-розовый пигмент. Проведена оценка их фитотоксичности с использованием кресс-салата в качестве тест-культуры. Оба микромицета проявили выраженное фитотоксическое действие, но его характер был разным. *P. rubrum* практически полностью подавлял прорастание семян, под действием *P. citrinum* происходило редуцирование корешков у проростков. При температуре 20 °С численность грибов была на два порядка ниже, чем при 35 °С.

Полученные результаты приводят к заключению, что эти микромицеты – продуценты микотоксинов, в условиях высокой температуры действительно явились причиной гибели растений.

Инокуляция *B. megaterium 501* в 1.5 повышала выживаемость кукурузы, а также способствовала снижению содержания атразина в почве. Выявлена хорошая приживаемость *B. megaterium 501* в ризосфере кукурузы. Количественный учет микромицетов из зоны корней пораженных растений показал значительно более высокую их численность в варианте без инокуляции. В связи с этим была проведена оценка антифунгального действия *B. megaterium 501* методом газона на агаризованной питательной среде. Радиус зоны подавления роста *P. citrinum* составил 0.5 см, *P. rubrum* – более 1 см. Отсюда можно сделать вывод, что положительное влияние инокуляции на повышение устойчивости растений к фитотоксичным микромицетам может быть обусловлено антифунгальным действием бациллы.

Полученные данные позволяют сделать заключение, что высокая температура инициирует интенсивное развитие *P. rubrum* и *P. citrinum* – продуцентов фитотоксинов, на семенах и корнях кукурузы, вызывая гибель растений. Инокуляция *B. megaterium 501*, антагониста микромицетов, оказывает протекторный эффект на растения кукурузы, повышая их выживаемость в этих условиях, а также снижает содержание гербицида атразина в почве.

Библиографический список (References)

- Доброзракова Т.Л. Сельскохозяйственная фитопатология. – Л.: Колос, 1974–328 с.
- Круглов Ю.В., Лисина Т.О. Интродукция в почву *Bacillus megaterium 501*^{mf}: факторы, влияющие на выживание, спорообразование и разложение гербицида прометрина // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 5. С. 107–112.
- Лисина, Т.О., Гаранькина Н.Г., Круглов Ю.В. Влияние интродуцируемых в почву микроорганизмов — деструкторов пестицидов на рост и развитие растений // Прикладная биохимия и микробиология. 2001. Т. 37. № 3. С. 374–378.
- Лисина, Т.О., Круглов Ю.В. Бацифор – новый биопрепарат для повышения иммунитета овощных культур // Картофель и овощи. 2004. № 2. С. 30–31.
- Лисина, Т.О. Влияние *Bacillus megaterium* и растений на детоксикацию почвы, загрязненной гербицидом прометрином // Тезисы конф. «Продукционный процесс растений: теория и практика эффективного и ресурсосберегающего управления». С.- Петербург. 2009. С.251–262.

THE INFLUENCE OF *BACILLUS MEGATERIUM* 501 ON PLANT GROWTH OF MAIZE UNDER STRESS CONDITIONS

T.O. Lisina, Yu.V. Kruglov

All-Russia Institute for Agricultural Microbiology, lisina-to@yandex.ru

The influence of *Bacillus megaterium* 501 on survival of maize plants in the conditions of a high-temperature stress and use of herbicide atrazine was studied in greenhouse experience. It is shown that the high temperature causes development of *Penicillium citrinum* and *Penicillium rubrum* (producers of the phytotoxins causing death of plants) in rizosphere. Atrazine had no effect on growth of plants and number of phytopathogens. It is established that *B. megaterium* 501 was an antagonist of these micromycetes. Inoculation of the soil by culture of *B. megaterium* 501 had the protective action to plants and also accelerated atrazine degradation.

УДК 633.854.78:631.523

НАСЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К МИЛДЬЮ ГИБРИДНЫМ ПОТОМСТВОМ ВИНОГРАДА, СКРЕЩИВАНИЯ БЕССЕМЯННОГО НАПРАВЛЕНИЯ

Л.А. Майстренко

Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко, Новочеркасск, Россия,
LA-majstrenko@yandex.ru

Целью исследования является выявление доноров и источников устойчивости к милдью для более широкого использования в селекционной работе. Работы выполнялись в корнесобственном гибридном питомнике, сеянцы возделывались в неукрывной культуре, без защиты от болезней, с загущенной схемой посадки (1 × 0.2 м), сеянцы посадки 2010–2011 гг. без орошения, а 2012–2014 гг. посадки на капельном орошении. Выявлены: донор по устойчивости к милдью – столовый сорт винограда Талисман и источники высокой устойчивости к болезни – сорта винограда Памяти Смирнова, Илья и перспективная форма Матрёшка. Полученные данные позволят использовать в селекционном процессе проверенные родительские формы для создания новых сортов винограда с высокой устойчивостью к грибным болезням.

Ключевые слова: гибридный питомник, донор, источник, комбинация скрещивания, селекция, толерантность, устойчивость.

В вегетацию 2014 и 2015 годов в июне сложились благоприятные условия для развития милдью. Был проведён гибридологический анализ по степени поражения милдью листьев у сеянцев в гибридных популяциях бессемянного направления селекционных работ 2010–2011 гг. посадки, схема посадки 1 × 0.2 м, без полива. По устойчивости к милдью сорт Талисман подтвердил донорское влияние в 10 комбинациях скрещивания, обеспечив выход высокоустойчивых сеянцев от 17% (Талисман × 2-7-6-18) до 85% (Талисман × Марс). Наиболее успешными были комбинации скрещивания, в которых оба родителя имели высокую устойчивость к болезни: Талисман × Эльф (53%), Талисман × 2-7-2-11, Талисман × Памяти Смирнова, Талисман × Золотце. Но, даже с неустойчивым европейским сортом Вита, было выявлено 27% устойчивых сеянцев и 73% толерантных.

Впервые в качестве источника устойчивости к милдью выделен бессемянный сорт Памяти Смирнова, в трёх комбинациях скрещивания выделено устойчивых и толерантных сеянцев: Талисман × Памяти Смирнова – 41% устойчивых и 59% толерантных сеянцев, ЗОС-1 × Памяти Смирнова – 31% и 23%, 6-1-5-3 × Памяти Смирнова – 17%. Также были выделены в качестве источника устойчивости к милдью форма Матрёшка и столовый сорт Илья, обеспечившие 100% выход устойчивых и толерант-

ных сеянцев соответственно по 5 комбинациям скрещивания (табл. 1).

В 2015 году инфекционный фон по милдью был более жёстким. Особенно это проявлялось на молодых сеянцах 2012–2014 гг. посадки, которые возделывались на капельном орошении при схеме посадки 1 × 0.2 м. По устойчивости к милдью сорт Талисман подтвердил свое донорское влияние в 5 комбинациях скрещивания, обеспечив выход устойчивых и толерантных сеянцев от 9% (Талисман × Красень) до 67% (Талисман × Кешос). Высокий процент толерантных сеянцев выделен в комбинациях сорта Талисман с сортообразцами Золотце (46%), Ярушка (32%), Кишмиш запорожский (25%). Толерантные к милдью сеянцы выявлены в гибридных популяциях: (Восторг красный × Баклановский) × Памяти Смирнова (38%), Памяти Кострикина × Золотце (8% устойчивых и 11% толерантных) (табл. 2).

Таким образом, в результате проверки на жёстком инфекционном фоне по милдью выделены: в качестве донора устойчивости к милдью сорт Талисман, в качестве источника сорта Памяти Смирнова, Илья и форма Матрёшка.

Рекомендуется шире использовать эти сорта в селекции, т.к. они являются ещё и источниками морозо- и зимостойкости.

Таблица 1. Распределение сеянцев по устойчивости к милдью в гибридных популяциях без орошения, %, 2014–2015 гг.

Комбинация скрещивания	Распределение сеянцев по устойчивости к милдью, %		
	устойчивые, поражение листа 1–2 балла	толерантные, поражение листа 3 балла	восприимчивые, поражение листа 4–5 баллов
Талисман × Эльф	53	47	0
Талисман × Марс	85	13	2
Талисман × I-17-7-4	31	69	0
Талисман × 2-7-2-11	48	52	0
Талисман × Памяти Смирнова	41	59	0
Талисман × Вита	27	73	0
Талисман × IV-6-1-1	29	71	0
Талисман × II-8-6-пк	37	63	0
Талисман × Золотце	40	40	20
Талисман × 2-7-6-18	17	83	0
Кеша × Илья	100	0	0
23-22-11-ппк × Илья	100	0	0
Восковой × Илья	3	97	0
Илья × Эльф	100	0	0
Илья × Матрёшка	0	100	
3-16-7-6 × Матрёшка	0	100	0
ИРС × Матрёшка	16	84	0
2-7-2-11 × Матрёшка	11	89	0
ЗОС-1 × Матрёшка	0	100	0
ЗОС-1 × Памяти Смирнова	31	23	46
6-1-5-3 × Памяти Смирнова	17	17	66

Таблица 2. Распределение сеянцев по устойчивости к милдью гибридным потомством, %, капельное орошение, 2015 г.

Комбинация скрещивания	Распределение сеянцев по устойчивости к милдью, %		
	Устойчивые, поражение листа 1–2 балла	Толерантные, пораже- ние листа 3 балла	Восприимчивые, пора- жение листа 4–5 баллов
Талисман × Кешос	0	67	33
Талисман × Ярушка	0	32	68
Талисман × Кишмиш Запорожский	0	25	75
Талисман × Красень	3	6	91
Талисман × Золотце	0	46	54
Памяти Кострикина × Золотце	8	11	81
(Восторг красный × Баклановский) × Памяти Смирнова	0	38	62

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 97–98

THE INHERITANCE OF MILDEW RESISTANCE BY HYBRID OFFSPRING OF GRAPES, SEEDLESS DIRECTIONS CROSSINGS

A.L. Maistrenko

All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko, ruswine@yandex.ru

The aim of the research is to identify donors and sources of resistance to mildew for wider use in breeding work. The work was carried out in own-rooted hybrid nursery, the seedlings were cultivated in uncovered culture, without protection from diseases, with thickened planting scheme (1 × 0.2 m), the seedlings planting 2010–2011 without irrigation, and 2012–2014 planting on drip irrigation. Identified a donor for resistance to mildew – variety Talisman and sources of high resistance to disease – grape varieties Pamyati Smirnova, Ilya and promising form of Matryoshka. The data obtained allow to use in the selection process audited the parent form to create new varieties of grapes with high resistance to fungal diseases.

УДК 633.854.78:631.523

НАСЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К МИЛДЬЮ ГИБРИДНЫМ ПОТОМСТВОМ ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА СЕЛЕКЦИИ ВНИИВИВ

А.Н. Майстренко, Л.А. Майстренко, Н.А. Дуран

*Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия имени Я.И. Потопенко, Новочеркасск, Россия,
LA-majstrenko@yandex.ru*

Целью исследования является выявление доноров и источников устойчивости к милдью для использования в селекционной работе. Сеянцы возделывались в корнесобственном гибридном питомнике в неукрывной культуре, без

защиты от болезней, схема посадки (1 × 0.2 м). Вновь выделены: доноры по устойчивости к милдью – белые технические сорта винограда Донус, Престиж. Сорта винограда селекции ВНИИВиВ им. Я.И. Потапенко – Платовский, Станичный, Шатен подтвердили свой статус доноров устойчивости к милдью. Полученные данные позволят использовать в селекционном процессе проверенные родительские формы для создания новых сортов винограда с высокой устойчивостью к грибным болезням. В элиту выделены пять сеянцев с высокой устойчивостью к милдью.

Ключевые слова: гибридный питомник, донор, источник, комбинация скрещивания, селекция, толерантность, устойчивость.

В 2014 и в 2015 гг. в конце мая – начале июня выпали значительные осадки, что явилось причиной эпифитотийного развития милдью на листовом аппарате виноградных растений. Это позволило провести анализ по устойчивости гибридных популяций сеянцев к патогену (табл.). В скрещиваниях Престиж × Платовский толерант-

ными к милдью оказались 100% сеянцев. Значительный процент толерантных сеянцев выявлен в комбинации скрещивания с неустойчивым к милдью сортом Фиолетовый ранний: Престиж × Фиолетовый ранний -71%. Это позволило в 2015 году выделить технический сорт винограда *Престиж* в качестве донора устойчивости к милдью.

Таблица. Устойчивость гибридного потомства к милдью, 2015г.

Комбинация скрещивания	Количество сеянцев, шт.	Распределение сеянцев по устойчивости к милдью, %		
		устойчивые 2 балла	толерантные 3 балла	Восприимчивые, 4–5 баллов
Донус × Мугофир	25	40	60	0
Донус × Ефремовский	28	0	63	37
Донус × Мускат Голодриги	47	8	68	24
Пухляковский белый × Донус	34	0	23	77
Мускат аксайский × Донус	243	18	82	0
Престиж × Фиолетовый Ранний	34	0	71	29
Престиж × Платовский	37	0	100	0
Станичный × Фиолетовый ранний	91	4	59	37
Станичный × Мускат Голодриги	44	0	4	96
Станичный × Платовский	25	36	64	0
1-8-9-1 × Станичный	27	0	0	0
Станичный × Шатен	36	100	0	0
VI-10-1-7 × Шатен	200	90	10	0
Платовский × П-4-1-3	36	0	100	0
Мускат аксайский × Платовский	31	90	10	0
VI-6-5-1 × Платовский	310	98	2	0
Пухляковский белый × Платовский	80	50	50	0
Шампанчик × Платовский	350	96	4	0

Сорта винограда Платовский, Станичный, Шатен подтвердили свой статус доноров по передачи признака устойчивости к милдью гибриднему потомству. Наиболее удачные комбинации по наследованию:

- VI-6-5-1 (Дружба×Платовский) × Платовский – 98% устойчивых сеянцев, Шампанчик × Платовский – 96% устойчивых сеянцев, Мускат аксайский × Платовский – 90% устойчивых и 10% толерантных сеянцев, Пухляковский белый × Платовский -50% устойчивых и 50% толерантных сеянцев;

- Станичный × Шатен – 100% устойчивых сеянцев, VI-10-1-7(Дружба×(Мускат аксайский×Феникс)) × Шатен – 90% устойчивых и 10% толерантных сеянцев;

- Станичный × Платовский – 36% устойчивых и 64% толерантных сеянцев, Станичный × Фиолетовый ранний (48% и 65%).

Наибольшее количество устойчивых к милдью сеянцев было получено в гибридных популяциях с обоими устойчивыми родителями: Станичный × Шатен (100%), Мускат аксайский × Платовский и VI-6-5-1 × Платовский (98%), VI-10-1-7 × Шатен (90%). При скрещивании неустойчивого сорта Фиолетовый ранний с устойчивыми сортами в гибридном потомстве преобладали толерантные сеянцы Престиж× Фиолетовый ранний (76% толерант-

ных) и Станичный × Фиолетовый ранний (4% устойчивых и 59% толерантных сеянцев). По результатам гибридологического анализа сеянцев пяти гибридных популяций в качестве донора устойчивости к милдью выделен сорт Донус. В скрещиваниях с неустойчивыми сортами получен значительный процент толерантных к милдью сеянцев: Пухляковский белый × Донус – 68% (неустойчивый × устойчивый), Донус × Ефремовский – 63% (устойчивый × неустойчивый), Донус × Мугофир – 60% (устойчивый × толерантный). В популяциях сорта Донус с устойчивыми сортами (устойчивый × устойчивый) выделены сеянцы высокоустойчивый и толерантные: Мускат аксайский × Донус – 18% устойчивых и 82% толерантных, Донус × Мускат Голодриги соответственно 8% и 68%.

Следовательно, для получения устойчивого к милдью потомства, применяя метод межвидовой гибридизации, в качестве доноров признака следует использовать в скрещиваниях сорта Платовский, Донус, Шатен.

В 2015 году выделены в элиту 5 сеянцев белого технического направления с высокой устойчивостью к милдью: 11-22-4-4, 11-22-3-2 из семьи VI-10-1-7 [Дружба×(Мускат аксайский×Феникс)] × Шатен; 11-25-7-5; 11-25-2-6 из семьи Шампанчик × Платовский; 10-16-1-1 из семьи Платовский × Шатен.

THE INHERITANCE OF RESISTANCE TO MILDEW HYBRID SEED VARIETIES BREEDING VNIIVIV

A.N. Maistrenko, A.L. Maistrenko, N.A. Duran

All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko, ruswine@yandex.ru

The aim of the study is to identify donors and sources of resistance to mildew for grape breeding. The seedlings were cultivated in own-rooted hybrid kennel in uncovered culture, without protection against disease, the scheme of planting (1 × 0.2 m). Novel donors of resistance to mildew –white technical grapes of Bonus, Prestige were determined. Grape breeding at VNIIViV named by Y. I. Potapenko Platovsky, Stanitsa, Shaten confirmed their status as donors of resistance to mildew. The data obtained allow to use in grape breeding novel and known sources of resistance to fungal diseases. Five selected seedlings with high resistance to mildew were selected as an elite material.

УДК 577.29

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ АГРОБАКТЕРИЙ В ПОРАЖЕННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫМ РАКОМ АМПЕЛОЦЕНОЗАХ АНАПО-ТАМАНСКОЙ ЗОНЫ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

М.В. Макаркина¹, И.А. Владимиров², Е.Т. Ильницкая¹, Т.В. Матвеева²

¹Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия, kubansad@kubannet.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, radishlet@gmail.com

Целью исследования являлось изучение видового состава и разнообразия штаммов агробактерий на виноградниках Анапо-Таманской зоны Краснодарского края. В качестве материала использовали опухоли с виноградных растений различных сортов, собранные на виноградниках Анапо-Таманской зоны. ДНК из опухолей выделяли ЦТАБ-методом с некоторыми дополнениями [Doyle et al., 1987; Tamari et al., 2013]. Для видовой идентификации агробактерий применяли метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием прибора АНК-32. Для исследования тонкого полиморфизма изолятов агробактерий применяли классический метод полимеразной цепной реакции с использованием прибора «Терцик» с последующей оценкой результатов методом электрофореза в агарозном геле и секвенированием фрагментов ДНК методом Сенджера. Полученные последовательности фрагментов ДНК анализировали в базе данных NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). В результате работы был определен видовой состав агробактерий и разнообразие изолятов на виноградниках Анапо-Таманской зоны Краснодарского края. Установлена принадлежность исследуемых патогенных агробактерий, к виду *Agrobacterium vitis* и близость их к штамму Ag57.

Ключевые слова: бактериальный рак винограда, *A. vitis*, ПЦР в режиме реального времени, *pehA* ген, *virF* ген, патогенные штаммы *Agrobacterium*.

Бактериальный рак – одно из наиболее вредоносных хронических заболеваний виноградной лозы. Возбудитель бактериального рака – бактерии рода *Agrobacterium*. Известно, что на винограде виды *Agrobacterium* представлены как вирулентными, так и авирулентными штаммами; выделяют штаммы, проявляющие различную патогенность или наоборот – даже антагонистическое действие на опухолеобразующие штаммы бактерии. Достоверная идентификация патогенных штаммов агробактерий – актуальная проблема, как для фундаментальных аспектов микробиологии, фитопатологии, так и для прикладных задач отрасли виноградарства.

На основе проанализированных комбинаций праймеров к различным генам агробактерий нами были выбраны 2 тест-системы, наиболее приемлемые для анализа биоматериала на предмет заражения *Agrobacterium vitis* Ophel and Kerr. С помощью праймеров и зонда для ПЦР в реальном времени к гену *pehA* (F:TGAAGAGCGGTGTCGTGCTG; R: AATCAGCGGCTTGCAGGTCT; Pr: TGAAGAGCGGTGTCGTGCTG) удалось обнаружить присутствие ДНК *A. vitis* во всех анализируемых образцах ДНК, выделенных из опухолей.

Тест-система на основе гена *virF* [Bini et al., 2008] предназначена для амплификации более протяженных фрагментов, пригодных для секвенирования и последующего более тонкого типирования изолятов на основе SNP. Секвенирование фрагментов гена *virF* двух образцов и последующее их сравнение с базой данных NCBI показало, что уровень их сходства с данным геном из *A. vitis* существенно выше, чем из *Agrobacterium tumefaciens* Conn и их соответствие фрагменту гена штамма *A. vitis* Ag57.

Из всего выше сказанного, можно заключить, что в ампелоценозах Краснодарского края паразитируют агробактерии вида *A. vitis* близкие к штамму Ag57. Для ответа на вопрос о степени сходства бактерий вызвавших заболевание в различных хозяйствах требуются дополнительные исследования, включающие секвенирование фрагментов генов, характерных для *A. vitis* и поиск полиморфизмов в них.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 15-34-51131 с использованием оборудования РЦ СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

Библиографический список (References)

- Bini F., Kuczmog A., Putnoky P., et al. Novel pathogen-specific primers for the detection of *Agrobacterium vitis* and *Agrobacterium tumefaciens*. *Vitis Journal of Grapevine Research*, 2008. V.47 (3). P.181–190.
- Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochem. Bull.*, 1987. V. 19. P. 11–15.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 100–101
- Tamari F., Hinkley C.S., Ramprasad N. A comparison of DNA extraction methods using *Petunia hybrida* tissues. *Journal of biomolecular techniques*, 2013. V. 24(3): P. 113–118.

IDENTIFICATION OF *AGROBACTERIUM* STRAINS IN THE CROWN GALL AFFECTED AMPELOCENOSES OF ANAPA-TAMAN ZONE OF KRASNODAR REGIONM.V. Makarkina¹, I.A. Vladimirov², E.T. Ilitskaya¹, T.V. Matveeva²¹North Caucasian Zonal Research Institute of Horticulture and Viticulture, kubansad@kubannet.ru²Saint Petersburg State University, spbu@spbu.ru

The aim of the research was to study the species composition and diversity of *Agrobacterium* strains in the vineyard area of the Anapa-Taman area of Krasnodar region. The used material was tumors from different varieties of grape plants collected in the vineyards of Anapa-Taman area. DNA was isolated from tumors with CTAB-method with some additions [Doyle et al., 1987; Tamari et al., 2013]. Real time polymerase chain reaction (carried out in the ANK-32) was used for identification of species of *Agrobacterium*. To study the thin polymorphism of isolates of *Agrobacterium* was used the classic method of polymerase chain reaction within the “Tertsik” device and the followed evaluation of the results by agarose gel electrophoresis and sequencing of DNA fragments by Sanger. The sequences of DNA fragments were analyzed in the NCBI database (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). As a result of the work we determined *Agrobacterium* species composition in the vineyards Anapo-Taman area of Krasnodar region. We identified that investigated pathogenic *Agrobacterium* belongs to the species *Agrobacterium vitis* similar to the strain Ag57.

УДК 57.055

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ МИКРОСПОРИДИЙ В СИМПАТРИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ СТЕБЛЕВЫХ МОТЫЛЬКОВ РОДА *OSTRINIA*

Ю.М. Малыш, И.В. Грушевая, Ю.С. Токарев, А.Г. Конончук, А.Н. Фролов

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,

julia_m_malysh@rambler.ru

Цель работы – изучить видовой состав и распространённость микроспоридий в симпатрических популяциях стеблевых мотыльков, собранных на территории России на кукурузе (*Ostrinia nubilalis*), полыни и конопле (*Ostrinia scapularis*). Благодаря ПЦР-скринингу экстрактов геномной ДНК насекомых с последующим секвенированием ампликонов в выборках обоих видов обнаружено широкое распространение типичной для кукурузного мотылька *O. nubilalis* микроспоридии *Nosema pyrausta* из класса Terresporidia. На основании проведённого анализа можно сделать вывод о том, что оба вида р. *Ostrinia* восприимчивы к заражению *N. pyrausta* и симпатрические популяции насекомых-хозяев характеризуются сходным уровнем заражённости микроспоридиями, хотя в большинстве случаев отмечена тенденция к более высокому уровню заражённости насекомых, питающихся на двудольных растениях.

Ключевые слова: ПЦР-скрининг, видовой состав, заражённость, чешуекрылые насекомые.

Стеблевые мотыльки рода *Ostrinia* (Lepidoptera: Crambidae) широко распространены в Евразии и Северной Америке, отдельные виды вредят кукурузе и другим злакам. Поскольку популяции мотыльков, питающиеся на однодольных и двудольных растениях, нередко различаются по составу половых феромонов, срокам вылета имаго и предпочтениям в выборе растений для откладки яиц, и поскольку скрещивание их между собой нередко затруднены, а анализ микросателлитной ДНК демонстрирует чёткие различия генетической структуры, обитающие в Европе симпатрические популяции насекомых подразделены на самостоятельные виды: *Ostrinia nubilalis* и *O. scapularis* [Frolov et al., 2012]. Во многих регионах динамика численности этих фитофагов в значительной степени контролируется деятельностью паразитических насекомых [Фролов, 2004]. Меньшую (по крайней мере на период конца XX века) эффективность в отношении контроля североамериканских популяций кукурузного мотылька *O. nubilalis*, сформировавшихся в результате проникновения вредителя, обнаруживали паразитические

насекомые, интродуцированные для борьбы с вредителем в начале XX века [Hudon et al., 1989]. С другой стороны, в этих условиях важную роль в регуляции численности насекомого играет микроспоридия *Nosema cf. pyrausta*, которая рассматривается как потенциальный продуцент микробиологических препаратов против кукурузного мотылька [Lewis, 2009]. В настоящей работе для анализа на заражённость микроспоридиями использованы выборки экстрактов геномной ДНК гусениц стеблевых мотыльков, собранных в Краснодарском крае, Белгородской, Ростовской и Ставропольской областях, а также в республике Татарстан на однодольных (кукуруза) и двудольных (полынь, конопля) растениях. ПЦР-скрининг проведён с использованием универсальных для микроспоридий праймеров 18f:1047г [Weiss, Vossbrinck, 1999] с последующим секвенированием ампликонов и BLAST-анализом полученных нуклеотидных последовательностей. Исследование проб, показавших положительный ответ, позволило идентифицировать выявленных микроспоридий как *Nosema pyrausta* из *O. nubilalis* на основании идентичности полученных

последовательностей гена рРНК с таковым, полученным нами ранее на базе другой лаборатории для типового изолята данного вида паразита из южной Франции (номер доступа в Генбанке HM566196).

Заражённость насекомых микроспоридиями в проанализированных выборках колебалась от 6 до 37%. При этом для симпатрических популяций хозяев обоих видов из одной географической точки показатели заражённости микроспоридиями оказались весьма сходными, хотя нередко заражённость насекомых с двудольных растений

была выше, чем таковых с однодольных. Максимальные значения заражённости отмечены для популяций из Белгородской обл.: 29% на кукурузе, 37% на польни. При усреднении данных по выборкам заражённость насекомых, собранных как с однодольных, так и с двудольных растений, оказалась близкой к 20%.

Поддержано РФФИ (№№ 15-04-01226, 16-54-00144-Бел_а) и Советом по грантам Президента РФ (№ МД-4284.2015.4).

Библиографический список (References)

- Сендерский И.В., Токарев Ю.С., Павлова О.А., Долгих В.В. Микроспоридии в лабораторной культуре двупятнистого сверчка *Gryllus bimaculatus* de Geer (Orthoptera: Gryllidae) // «Беспозвоночные животные в коллекциях зоопарков и инсектариюв». Московский зоопарк, 2011. с. 179–182.
- Фролов А.Н. Биотические факторы депрессии кукурузного мотылька // Вестник защиты растений, 2004. Т. 2, с. 37–47.
- Hudon M., LeRoux E.J., Harcourt D.G. Seventy years of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) research in North America // Biology and population dynamics of invertebrate crop pests. Intercept Ltd. Andover, 1989. 1–44.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 101–102
- Frolov A.N., Audiot P., Bourguet D., Kononchuk A.G., Malysh J.M., Ponsard S., Streiff R., Tokarev Y.S. “From Russia with lobe”: genetic differentiation in trilobed uncus *Ostrinia* spp. follows food plant, not hairy legs // Heredity, 2012. V. 108, p. 147–156.
- Lewis L.C., Bruck D.J., Prasifka J.R., Raun E.S. *Nosema pyrausta*: Its biology, history, and potential role in a landscape of transgenic insecticidal insecticidal crops // Biol. Control, 2009. V. 48. p. 223–231.
- Weiss L.M., Vossbrinck C.R. Molecular biology, molecular phylogeny, and molecular diagnostic approaches to the Microsporidia // The Microsporidia and Microsporidiosis. Washington, ASM Press, 1999. p. 129–171.

SPECIES DIVERSITY OF MICROSPORIDIA IN SYMPATRIC POPULATIONS OF STEM BORERS OF THE GENUS *OSTRINIA*

Yu.M. Malysh, I.V. Grushevaya, Yu.S. Tokarev, A.G. Kononchuk, A.N. Frolov

All-Russian Institute of Plant Protection, julia_m_malysh@rambler.ru

Aim of the present study is to determine species composition and prevalence rates of microsporidia in sympatric populations of *Ostrinia nubilalis* and *Ostrinia scapularis*, collected in Russia on different forage plants. For this purpose genomic DNA extracts were exploited for PCR screening followed by amplicon sequencing. As a result, wide dispersal of microsporidia is revealed belonging to *Nosema pyrausta* from Class Terresporidia. Basing upon this survey it can be concluded that both species of moths are vulnerable to infection with *N. pyrausta* at similar levels though there is a tendency of higher parasite's prevalence rates in dicotyledonous plants.

УДК 574.476

БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕКРОТИЧЕСКОГО БАРЬЕРА В ЗАЩИТЕ КАРТОФЕЛЯ ОТ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА

И.С. Марданшин¹, Г.В. Беньковская²

¹Башкирский НИИ сельского хозяйства, Уфа, Россия, ildar.mardanshin1966@yandex.ru

²Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

Цель: изучение эффективности действия некротического барьера на личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) в защите картофеля. Метод: в полевых условиях, на сеянцах, полученных от самоопыления сорта Башкирский, был изучен характер наследования и фенотипическая экспрессия признака кодирующего образования некроза на листовой пластинке в месте прикрепления кладки вредителя. Результаты: установлено, что расщепление генов обуславливающих признак реакции сверхчувствительности на компоненты яйцекладок колорадского жука происходит по рецессивному типу и фенотипическое проявление признака в потомстве имеет различную степень. Область применения: разработка новых подходов к оценке селекционного материала при отборе на устойчивость к колорадскому жуку. Выводы: биологическая эффективность некротического барьера зависит от степени развития некроза, при полном прободении листовой пластинки эмбриональная смертность близка к 100%. Для создания сортов картофеля с высокой устойчивостью к колорадскому жуку эффективен отбор с высокой фенотипической экспрессией этого признака.

Ключевые слова: некротический барьер, картофель, колорадский жук, эмбриональная смертность.

В системах интегрированной защиты картофеля от вредоносных объектов важная роль принадлежит возделыванию устойчивых сортов, что во всех случаях обеспечивает снижение пестицидной нагрузки на агроэкосистемы, способствует получению не загрязненной продукции и немалому энерго- и ресурсосбережению. Целенаправлен-

ный селекционный отбор на устойчивость к повреждению колорадским жуком и создание новых сортов картофеля с этими свойствами является ключевым моментом в решении данной проблемы.

Ранее нами был создан сорт картофеля Башкирский [Марданшин и др. 2013], на листьях которого в ответ на

откладку насекомыми яиц развивались некрозы листовой пластинки в месте прикрепления кладки, что приводило к гибели значительной её части. Установлено критическое влияние этого признака на выживаемость яиц до стадии личинок 4 возраста. Показано 20-кратное снижение выживаемости личинок на этой стадии у сорта Башкирский по сравнению с сортом Луговской, не имеющим этого признака, и 5–7 кратное снижение по сравнению с сортами Невский и Удача, на листьях которых этот признак проявляется частично [Марданшин и др. 2012]. Ограничение репродуктивного потенциала насекомого-вредителя на сорте Башкирский, происходило вследствие высокой эмбриональной смертности личинок [Mardanshin et al., 2014]. В свете этого использование генетических ресурсов коди-

рующих признак некротического барьера, который лимитирует плодовитость насекомого вредителя на этапе эмбриогенеза, является перспективным инструментом при создании сортов картофеля устойчивых к вредителю.

Для оценки биологической эффективности некротического барьера в защите картофеля от колорадского жука и характера наследования этого признака нами были получены сеянцы от самоопыления сорта картофеля Башкирский (104 шт.). В полевых условиях было установлено, что расщепление генов обуславливающих признак реакции сверхчувствительности (СВЧ) на клеточные компоненты яйцекладок колорадского жука происходит по рецессивному типу и фенотипическое проявление признака в потомстве имеет различную степень (рис.).

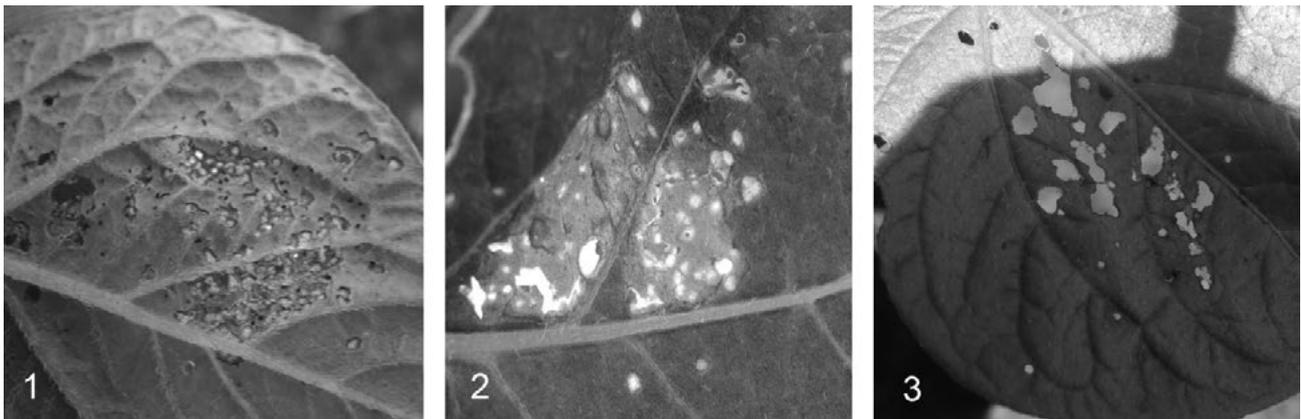


Рисунок. Степень развития некрозов в листовой пластинке картофеля в ответ на откладку яиц колорадским жуком: 1-частичное повреждение нижнего слоя эпидермиса, 2-полное повреждение нижнего эпидермиса и паренхимы листа, 3- сквозное прободение листовой пластинки

На основе полученных нами данных мы пришли к заключению, что биологическая эффективность некротического барьера зависит от степени развития некроза. При неполном развитии некроза в виде отмирания нижнего слоя эпидермиса, а также паренхимы листа часть кладки выживает и личинки развиваются. При полном же про-

бодении листовой пластинки и падении кладки на почву эмбриональная смертность близка к 100%. Для создания сортов картофеля с высокой устойчивостью к колорадскому жуку эффективен отбор с высокой фенотипической экспрессией этого признака.

Библиографический список (References)

Марданшин И.С., Умаров И.А., Лукманова Г.М., Удалов М.Б., Беньковская Г.В. / Сорт Башкирский устойчив к колорадскому жуку. //Ж.«Картофель и овощи», 2013, N 7, с.30–31.

Марданшин И.С. Беньковская Г.В., Сурина Е.В., Китаев К.А., Удалов М.Б. Использование реакции сверхчувствительности листьев на размещение кладок яиц колорадского жука – новый инструмент при создании

устойчивых к вредителю сортов картофеля. // Сборник материалов III международной научно-практической конференции «Современные проблемы биологии, экологии и химии», г. Запорожье, 2012г, с.83–85.

Mardanshin I.S. etc.. Hydrolytic Enzyme Inhibitors and Necrotic Reactions in Potato Leaves Reduce Reproductive Success of Colorado Potato Beetle Journal of Agricultural Science and Technology A 4 (2014) P.331–341.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 102–103

THE BIOLOGICAL EFFECTIVENESS OF NECROTIC BARRIER TO PROTECT THE POTATO FROM THE COLORADO POTATO BEETLE

I.S. Mardanshin¹, G.V. Benkovskaya²

¹Bashkir Scientific Institute of Agriculture of RAAS, ildar.mardanshin1966@yandex.ru;

²Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS

Aims: Investigation of the effectiveness of the barrier necrotic action on the larvae of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) in the protection of potatoes. Methods: in the field, on the seedlings derived from self-pollination varieties Bashkir, has been studied the nature of inheritance and the phenotypic expression of the coding sign of necrosis development on the leaf blade at the place of attachment of the pest egg clutch. Results: It was found that the segregation of the genes causing a sign of hypersensitivity reaction to of the cellular components of the Colorado potato beetle eggs occurred after the recessive manner and phenotypic expression of the characteristic in the progeny is of a different degree. Application field: development of new approaches to the evaluation of breeding material in the potato selection for resistance to Colorado beetle. Conclusion: the biological effectiveness of necrotic barrier depends on the extent of necrosis, under the complete perforation of leave lamina the embryonic mortality is near 100%. To create the potato varieties with high resistance to Colorado beetle selection of high expression of the phenotypic trait is efficient.

УДК 632.938.1

ОЦЕНКА И ОТБОР ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ НА КОМПЛЕКСНУЮ УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ И ВРЕДИТЕЛЯМ

А.А. Маслова, А.А. Ушаков, В.И. Старцев, Л.Л. Бондарева

Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур РАН, Московская область, Россия, vniissok@mail.ru

Проведена оценка инбредных линий капусты на комплексную устойчивость к болезням и вредителям. Устойчивые линии использованы в культивировании капусты.

Ключевые слова: капуста белокочанная, линии, гибриды, устойчивость, болезни, вредители.

Успех выращивания капусты белокочанной во многом зависит от правильного подбора сортов и гибридов. Следует учитывать тот момент, что самый хороший сорт не может проявить весь свой потенциал без создания оптимальных условий для его роста и развития, т.е. он должен быть районирован в конкретной зоне [Андреев, Монахов, 2011]. Кроме того, сорта и гибриды капусты белокочанной поражаются целым рядом болезней (кила, слизистый и сосудистый бактериоз, альтернариоз, фузариозное увядание, серая гниль и др.) и повреждаются вредителями (крестоцветные блошки, капустная и репная белянки, капустная моль и др.) развитие которых зависит от целого ряда биотических и абиотических факторов. В связи с этим создание устойчивых гибридов и сортов является наиболее экологически оправданным способом защиты посадок капусты белокочанной от болезней и вредителей.

Приоритетным направлением в селекции капустных культур является создание гетерозисных гибридов, которые сочетают в себе ряд положительных признаков: высокая выравненность и товарность кочанов, пригодность для механизированного возделывания, устойчивость к наиболее распространенным в конкретной зоне болезням и вредителям. Процесс по созданию новых гетерозисных гибридов идет постоянно и обусловлен он тем, что возрастает потребность населения в получении разнообразной продукции и в сырье для перерабатывающей промышленности. Устойчивость растений капусты к болезням и повреждению вредителями закладывается в генотип на самых ранних этапах селекционного процесса [Пивоваров, Старцев, 2006; Войтенкова, 2011]. В лаборатории селекции и семеноводства капустных культур создан обширный селекционный материал – исходные родительские линии и межлинейные гибриды, которые дают возможность создавать гетерозисные 2-х и 4-х линейные гибриды капусты белокочанной различных групп спелости. Обладая комплексом хозяйственно ценных признаков созданные инбредные линии как самонесовместимые, так и совместимые могут быть вовлечены в различные селекционные процессы [Пивоваров, Бондарева, 2013]. Имеющийся сортимент сортов капусты белокочанной селекции ВНИИССОК служит уникальным генофондом при создании инбредных линий для получения гетерозисных гибридов с заданными параметрами. В последнее время с использованием инбредных линий, полученных из сортов селекции ВНИИССОК, созданы гетерозисные гибриды капусты белокочанной: Аврора F₁ — раннеспелого срока созревания, Северянка F₁ — среднепозднего срока созревания, со стабильной урожайностью, устойчивостью к болезням и вредителям. В связи с тем, что постоянно меняются условия и технология выращивания капусты белокочанной, идет накопление и распространение болезней и вреди-

телей исследования по оценке селекционного материала на устойчивость являются актуальными и необходимыми [Кашанова, Чернышева, 2009; Лежнина, Круглова, 2011]. В задачу наших исследований входило: оценка инбредных линий капусты белокочанной на комплексную устойчивость к болезням и вредителям и выделение эффективных генетических источников устойчивости. Исследования проводили на инбредных линиях капусты белокочанной различного поколения инбридинга из генетической коллекции лаборатории селекции и семеноводства капустных культур ВНИИССОК. Инбредные линии анализировали на комплексную устойчивость к болезням и вредителям на естественном и искусственном фоне. Учеты по распространению и вредоносности болезней и вредителей проводили визуально в период вегетации капусты и непосредственно по показателям проявления болезни на растениях, оценивая пораженную площадь листа, стебля, корня, стручков в баллах и процентах [Квасников, Белик, 1970; Самохвалов, 1997; Вилкова и др., 2004]. Оценка растений капусты на поражение килой проводили на специально созданном инфекционном фоне, нагрузка возбудителя составляла 10⁶ спор/см³. За 2010–2015 годы на естественном фоне проанализировано более 430 инбредных линий капусты белокочанной, на искусственном фоне — на пораженность килой — 198 линий.

Разнообразие оцененных инбредных линий капусты белокочанной позволило выявить образцы с комплексной устойчивостью к наиболее распространенным в нашей зоне болезням и вредителям, которые могут быть носителями генов устойчивости. К относительно устойчивым были отнесены инбредные линии у которых степень поражения болезнями и вредителями не превышала 10%.

По результатам оценки перспективных инбредных линий на комплексную устойчивость к болезням и вредителям и хозяйственно ценных признаков позволило создать конвейер гетерозисных гибридов, отвечающих требованиям современного потребительского рынка. Это гибри-

Таблица. Результаты анализа инбредных линий капусты белокочанной на комплексную устойчивость к болезням и вредителям

Годы исследований	Естественный фон		Искусственный фон к кило	
	Всего анализируемых линий, шт	С комплексной устойчивостью, шт	Всего анализируемых линий, шт	С комплексной устойчивостью, шт
2010	104	36	75	30
2011	47	42	25	15
2012	88	47	15	4
2013	65	51	44	24
2014	68	64	19	10
2015	62	47	20	8

ды: Аврора F₁ – скороспелый, продуктивный; Зарница F₁ – среднеранний, продуктивный, устойчивый к растрескиванию кочанов; Северянка F₁ – среднепоздний, продуктивный, для хранения и переработки; Снежинка F₁ – среднепоздний, с порционной массой кочана (до 2-х кг), высоким содержанием сахара (до 7%); Мечта F₁ – поздний- продук-

тивный, для продолжительного хранения. Использование современных биотехнологических методов селекции позволило создать серию ДНлиний — удвоенных гаплоидов, которые показали комплексную устойчивость к болезням и вредителям и в настоящее время включены в селекционную работу.

Библиографический список (References)

Андреев Ю.М., Монахов С.Г. и др. «Элементы технологии выращивания гибридов капусты пекинской с устойчивостью к киле крестоцветных». // Вестник овощевода. N 2, 2011. с.14–17.
 Войтенкова Л.И. «Создание линий для получения гетерозисных гибридов капусты белокочанной в Приморском крае». Сб.н.тр. По овощеводству и бахчеводству. ВНИИО, М.- 2011. с. 14–17.
 Вилкова Н.А. и др. Научно – обоснованные параметры конструирования устойчивых к вредителям сортов сельскохозяйственных культур. ВИЗР. –Сб.П.,-2004, С-76.
 Кашнова Е.В., Чернышева Н.Н. «Результаты оценки исходного материала капусты белокочанной на устойчивость к болезням в условиях Алтайского края». //Гавриш. 2009. N 5. с.28–30.

Квасников Б.В., Белик Т.А. Методика оценки сортов капусты на устойчивость к киле. ВАСХНИЛ.- М.- 1970. 16с.
 Лежнина А.А., Круглова Н.А., « Инбредные линии капусты краснокочанной, устойчивые к фузариозу- основа создания гибридов». // Картофель и овощи. N 4.2011.с.25.
 Пивоваров В.Ф.,Бондарева Л.Л. « Основные направления и результаты селекции и семеноводства капустных культур».// Овощи России, N 3, 2013.с.4–9.
 Пивоваров В.Ф., Старцев В.И. «Капуста, её виды и разновидности». ВНИИССОК. М. 2006.192с.
 Самохвалов А.Н. Методы селекции овощных растений на устойчивость к болезням. М. 1997. 138С.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 104–105

ESTIMATION AND SELECTION OF INBRED LINES OF CABBAGE ON COMPLEX STABILITY TO ILLNESSES AND WRECKERS

A.A. Maslova, A.A. Ushakov, V.I. Startsev, L.L. Bondareva

All-Russian Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production, vniissok@mail.ru

An estimation of inbred lines of cabbage for complex resistance to diseases and pests was performed. The resistant cabbage lines were used in breeding.

УДК 577.29

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ РАЗНООБРАЗИЯ КЛТ-ДНК ПРИРОДНО-ТРАНСГЕННЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ *LINARIA* И *NICOTIANA*

Т.В. Матвеева, Г.В. Хафизова, Л.А. Лутова

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, t.v.matveeva@spbu.ru

Целью исследования являлась разработка подходов для изучения сайтов локализации и оценки полиморфизма нуклеотидных последовательностей клТ-ДНК природно-трансгенных растений родов *Linaria* и *Nicotiana*. Разработаны тест-системы для изучения сайтов локализации различных клТ-ДНК у представителей рода *Nicotiana*. Выявлено разнообразие и различие сайтов локализации клТ-ДНК у представителей различных секций данного рода. Выявлено единство сайта локализации, а также внутри и межвидовой полиморфизм клТ-ДНК у представителей рода *Linaria*.

Ключевые слова: природно-трансгенные растения, клТ-ДНК, *Linaria*, *Nicotiana*.

Агробактерии — это почвенные бактерии из семейства *Rhizobiaceae*. Они способны переносить в клетки растений и интегрировать в растительные хромосомы фрагменты своей ДНК (Т-ДНК), тем самым индуцируя развитие заболевания корончатый галл или косматый корень. Способность агробактерий переносить в растения свою ДНК легла в основу получения трансгенных растений [White et al., 1982]. В то же время известны факты присутствия в геномах некоторых видов растений последовательностей, гомологичных Т-ДНК агробактерий. Такие виды являются природно-трансгенными и на данный момент описаны в пределах трех родов: *Linaria*, *Ipomea*, *Nicotiana* [White et al., 1983; Matveeva et al., 2012; Kyndt et al., 2015]. То, что представители данных видов сохранили и продолжают передавать из поколения в поколение клТ-ДНК наводит на мысль о ее важной роли. Детальная характеристика клТ-ДНК и ее полиморфизмов позволит подойти к решению вопроса о ее возможной эволюционной роли. Целью данного исследования являлась разработка подходов для изучения сайтов локализации и оценки полиморфизма нуклеотид-

ных последовательностей клТ-ДНК *Linaria* и *Nicotiana*.

В качестве материала использовали вегетативные ткани асептических растений *Linaria vulgaris*, *Nicotiana glauca*, *Nicotiana tabacum*, а также молодые листья *L. vulgaris*, *L. genistifolia*, собранные с растений из 30 природных популяций европейской части России. ДНК из растительных тканей выделяли ЦТАБ-методом [Doyle et al., 1987]. Для обнаружения клТ-ДНК применяли метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с вырожденными праймерами и зондами к ключевым онкогенам агробактерий на приборе АНК-32 (ИАП РАН, СПб, РФ). Для изучения сайтов локализации клТ-ДНК подбирали праймеры к Т-ДНК вблизи ее границ и к растительной ДНК, фланкирующей Т-ДНК вставку. Для изучения полиморфизмов Т-ДНК в приграничной зоне использовали ПЦР и гель-электрофорез для выявления крупных полиморфизмов и геномное секвенирование для выявления SNP.

Было показано, что все проанализированные образцы *N. glauca*, *N. tabacum*, а *L. vulgaris*, *L. genistifolia* содержат клТ-ДНК. У всех исследованных образцов льянок сайты

локализации клТ-ДНК в геноме совпадают, что свидетельствует о монофилетическом происхождении исследуемых льнянок, а также о том, что трансформации подверглась их предковая форма. Сайты локализации клТ-ДНК у *Nicotiana* различаются, что согласуется с представлением о множественных актах трансформации данных видов. Разработанные для табака тест системы для выявления сайтов локализации клТ-ДНК могут быть использованы для исследования других видов данного рода.

Выявлен полиморфизм приграничной зоны клТ-ДНК льнянок (рис.). Он представлен одной делецией и множественными SNP. В популяциях *L. vulgaris* преобладают формы с делецией, в то время как большинство популяций *L. genistifolia* представлены формами с полноразмерным фрагментом. Исключение составляет незначительное количество растений *L. genistifolia*, произрастающие вместе с *L. vulgaris*. У них выявлены формы с делецией, предположительно, как результат гибридизации с *L. vulgaris*.

Из всего выше сказанного, можно заключить, что трансформация растений в эволюции происходила неоднократно, после чего трансгенные растения дивергировали. Разработанные подходы и тест-системы позволят быстро анализировать новые виды табака и льняно к на предмет

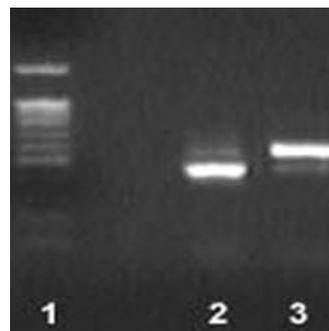


Рисунок. Полиморфизм длин фрагментов приграничной зоны клТ-ДНК (1 — маркер молекулярного веса 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific, San Jose, USA), 2 — фрагмент с делецией, 3- полноразмерный фрагмент)

сайтов локализации клТ-ДНК и исследовать ее полиморфизм. Эти данные позволят отслеживать изменения Т-ДНК, характер расселения природно-трансгенных растений, прогнозировать возможные экологические риски возделывания ГМО.

Работа выполнена при поддержке грантов РНФ 16-16-10010, РФФИ 14-04-01480.

Библиографический список (References)

- Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochem. Bull.*, 1987. V. 19. P. 11–15.
- Kyndt T., Quispe D., Zhai H., Jarret R., Ghislain M., Liu Q., Gheysen G., Kreuze J.F. The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2015. V. 112. P. 5844–5849
- Matveeva, T. V., Bogomaz, D. I., Pavlova, O. A., Nester, E. W., and Lutova, L. A. Horizontal Gene Transfer from Genus *Agrobacterium* to the Plant *Linaria* in *Nature.Mol. Plant Microbe Interact.* 2012. V. 25. P. 1542–1551.
- White, F. F., Garfinkel, D. J., Huffman, G. A., Gordon, M. P., and Nester, E. W. Sequence homologous to *Agrobacterium rhizogenes* TDNA in the genomes of uninfected plants. *Nature* 1983. V.301. P. 348–350.
- White, F. F., Ghidossi, G., Gordon, M. P., and Nester, E. W. Tumor induction by *Agrobacterium rhizogenes* involves the transfer of plasmid DNA to the plant genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1982. V. 79. P. 3193–3319
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 105–106

MOLECULAR GENETIC APPROACHES FOR STUDY OF CT-DNA DIVERSITY IN NATURALLY TRANSGENIC PLANT SPECIES OF *NICOTIANA* AND *LINARIA* GENERA

T.V. Matveeva, G.V. Khafizova, L.A. Lutova

Saint Petersburg State University, t.v.matveeva@spbu.ru

The aim of the study was to develop approaches for the study of the localization sites and evaluate the polymorphism of the nucleotide sequences of cT-DNA in naturally transgenic plant from genera *Linaria* and *Nicotiana*. A test systems for studying of the sites of localization of different cT-DNA in the genus *Nicotiana* were developed. The diversity and localization sites of cT-DNA were revealed in representatives of different sections of the genus. The unity of localization site, as well as intra- and interspecific polymorphism of cT-DNA in the genus *Linaria* was revealed.

УДК 577.2:575.113:575.162

НЕ СОВСЕМ ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ

Т.В. Матвеева

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, t.v.matveeva@spbu.ru

Развитие методов геной инженерии растений привело к необходимости новой классификации генно-инженерной продукции. В зависимости от источника переносимого гена предложено разделять понятия трансгенных (привнесены гены филогенетически удаленных видов), цисгенных (привнесены гены того же вида) и интрагенных (привнесены гены того же вида, но регуляторные элементы гетерологичны) организмов. Кроме того, генно-инженерными методами можно снижать экспрессию собственных генов растения и даже мутировать их. Имеет смысл на законодательном уровне разделить понятия трансгенных и цисгенных организмов, а также приравнять к цисгенным формы с измененной методами геной инженерии экспрессией генов и дизрупцией генов.

Ключевые слова: геной инженерия, цисгенные растения, методы редактирования ДНК, сайленсинг.

Минуло два десятилетия с тех пор, как на поля вышли первые трансгенные растения. С тех пор по данным

организации ISAAA (isaaa.org) посевные площади под трансгенными растениями в мировом масштабе достигли

200 млн га. Использование трансгенных культур сократило количество пестицидов примерно на 500 млн кг. В 2013 году сокращение распыления инсектицидов снизило выбросы CO₂ на 28 млрд кг, что эквивалентно удалению с дорог 12.4 млн автомобилей в течение года. Вместе с тем есть страны, в число которых входит и Россия, где запрещено возделывать трансгенные растения, но разрешено употреблять их в пищу. Это означает, что наше сельское хозяйство оказывается на отстающих позициях. Для нормализации ситуации необходимо принять меры по легализации трансгенных растений. Поскольку в настоящее время имеет место настороженное отношение общественности к данной проблеме, решать ее следует поэтапно.

Изначально под трансгенными организмами понимали такие организмы, в которые была привнесена «чужая» ДНК методами генной инженерии. На данном этапе развития генно-инженерных технологий стало ясно, что привнесенная ДНК может иметь разное происхождение и функцию. В 2006 году в научной литературе было предложено разделить генноинженерно модифицированные организмы на группы, в зависимости от источника трансгенов [Schouten et al., 2006]. В настоящее время организмы, в геном которых были введены гены организмов, одного с ними вида или видов, с которыми они скрещиваются в естественных условиях предложено называть *цисгенными* (в случае если введен ген с «собственными» регуляторными участками) либо *интрагенными* (если введен ген с регуляторными участками других генов). Под трансген-

ными организмами подразумевают организмы, в геном которых были при помощи методов генной инженерии введены отсутствующие там гены из филогенетически удаленных видов. Кроме того, развиваются подходы задачей которых является целенаправленное редактирование генома с привлечением методов генной инженерии. К ним относятся:

- система CRISPR/Cas — метод сайт-селективного редактирования генома с помощью фермента, узнающего необходимую последовательность цепи ДНК «по наводке» комплементарного ей РНК «гида»;

- использованию белков с доменом «цинковые пальцы» и белков TALE, характеризующихся сродством к ДНК. Такие ДНК-связывающие модули могут быть объединены с многочисленными эффекторными доменами, в том числе с нуклеазами.

Давно применяются достижения, связанные с использованием явления сайленсинга для получения трансгенных форм с измененными свойствами. Далеко не полный список линий с сайленсированными генами представлен в таблице.

Имеет смысл на законодательном уровне разделить понятия трансгенных и цисгенных организмов, а также приравнять к цисгенным формы с измененной методами генной инженерии экспрессией генов и дизрупцией генов. С этих форм следует снять ограничения, относящиеся к трансгенным растениям.

Таблица. Некоторые примеры коммерческих линий ГМ растений, где использовано явление сайленсинга (по данным ISAAA)

вид	линия	конструкция	эффект
томаты	1345-4	модифицированный транскрипт гена синтазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (ACC)	Снижение синтеза этилена и замедление созревания плодов
	FLAVR SAVR™ B; Da и др	Ген pg в антисмысловой ориентации	Подавлена транскрипция полигалактуроназы что ведет к замедлению размягчения плодов
	Huafan No 1	ген 1-аминоциклопропан -1-карбоксилат-оксидазы (ACO) в антисмысловой ориентации	Снижение экспрессии ACO, снижение синтеза этилена, замедление созревания
Соя	260-05 (G94-1, G94-19, G168) DP305423	Ген дельта-12-десатуразы в антисмысловой ориентации	Блокирует преобразование олеиновой кислоты в линолеовую кислоту, приводя к накоплению мононенасыщенной олеиновой кислоты в семенах
картофель	AM04-1020	ген грануло-связанной крахмал-синтазы (GBSS) в антисмысловой ориентации	снижен уровень амилозы и повышен уровень амилопектина в крахмальных гранулах
	E12, E24, F10, F37 и др.	Образование дунитевой РНК гена asn1	деградация транскриптов ASN1, что приводит к снижению образования аспарагина
	E12, E24, F10, F37 и др.	Образование дунитевой РНК гена pPhL	деградация транскриптов PHL, для ограничения образования сахаров за счет деградации крахмала
	E12, E24, F10, F37 и др.	Образование дунитевой РНК гена pro5	деградация транскриптов pro5, что приводит к снижению потемнения тканей
яблоня	GD743	Образование дунитевой РНК гена PGAS PPO	деградация транскриптов pro, что приводит к снижению потемнения тканей

Библиографический список (References)

ISAAA (<http://www.isaaa.org/>) Дата обращения 30.03.16

Schouten H.J. Krens F.A., Jacobsen E. Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants: International regulations for genetically modified

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 106–108

organisms should be altered to exempt cisgenesis, EMBO Rep. 2006 V. 7(8). P750–753.

NOT EXACTLY TRANSGENIC PLANTS

T.V. Matveeva

Saint Petersburg State University, t.v.matveeva@spbu.ru

The development of genetic engineering of plants has led to the need for a new classification of genetic engineering products. Depending on the source of the transferred gene it was proposed to distinguish transgenic (genes are introduced from

phylogenetically distant species) cisgenic (genes are introduced from the same species) and intragenic (genes are introduced from the same species, but the regulatory elements are heterologous) organisms. In addition, genetic engineering methods can be used to reduce expression of plants own genes or even mutate them. It makes sense to divide at the legislative level, the notion of transgenic and cisgenic organisms and equate forms with genes silenced or disrupted by genetic engineering methods, to cisgenic organisms.

УДК 579.64

БАКТЕРИИ РОДА *PSEUDOMONAS* КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЕ АГЕНТЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ И РОСТА УРОЖАЙНОСТИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Л.Ф. Миннебаев

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, linar00711@gmail.com

Цель работы – изучение бактерий рода *Pseudomonas* в качестве агентов биологического контроля заболеваний и роста урожайности в сельском хозяйстве. Для определения эффективности препаратов на основе бактерий проведена оценка урожайности яровой пшеницы в производственных условиях, показавшая заметное повышение урожайности при использовании штаммов *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 и *Pseudomonas corensis* ИБ-4.

Ключевые слова: PGPR-штаммы, род *Pseudomonas*, сельское хозяйство, агрономия.

Обработка посевного материала, а также корней и проростков растений некоторыми штаммами PGPR *Pseudomonas* может существенно снижать пораженность растений фитопатогенами и увеличивать урожайность сельскохозяйственных культур. Использование таких штаммов в сельскохозяйственной практике, по мнению многих исследователей, уже в ближайшее время найдет широкое применение в современной агроботехнологии. Возможность применения биологических, и в частности микробиологических, объектов для защиты растений от фитопатогенов исследуется около 70 лет. Специалисты, занимающиеся этой проблемой, часто называют биологическую защиту растений с помощью других организмов биологическим контролем фитопатогенов [Боронин, 1998].

Для оценки эффективности штаммов *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 и *Pseudomonas corensis* ИБ-4 были проведены производственные испытания на яровой пшенице сорта Экада-70 Элита. Исследования проводились в 2015 г. ООО «Урал» Илишевского района Республики Башкортостан. Обработка посевного материала заключалась в протравливании семян биопрепаратами перед посевом и однократном опрыскивании во время вегетации в фазе выхода в трубку. В качестве эталона использовался препарат «Бациспектин» на основе штамма *Paenibacillus ehimensis* ИБ-739 (титр клеток – $2 \cdot 10^8$ КОЕ/мл). Для исследования были взяты культуральная жидкость *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 (титр $2-3 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) и *Pseudomonas corensis* ИБ-4 (титр $8 \cdot 10^9$ КОЕ/мл). Посев и уход за расте-

ниями осуществлялся согласно общепринятой технологии возделывания сельскохозяйственных культур. Норма расхода биопрепаратов для протравливания семян составляла 1 л/т (концентрата), для опрыскивания растений 1 л/га (концентрата).

В результате проведения производственных испытаний было показано, что при обработке семян и растений пшеницы препаратами на основе штаммов бактерий рода *Pseudomonas* была отмечена прибавка урожая соизмеримое с таковой при обработке хорошо зарекомендовавших себя и широко используемыми биопрепаратами («Бациспектин»). Таким образом, предпосевная обработка семян и вегетирующих растений пшеницы культуральной жидкостью на основе штаммов *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 и *Pseudomonas corensis* ИБ-4 приводит к увеличению урожайности (табл.).

Таблица. Урожайность яровой пшеницы сорта Экада-70 Элита при обработке биопрепаратами

Варианты опыта	Уборочная площадь, га	Урожайность, ц/га	Прибавка урожая, ц/га	Прибавка урожая, %
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> ИБ-51	10.0	25.4	3.9	18.13
<i>Pseudomonas corensis</i> ИБ-4	10.0	23.7	2.2	10.23
<i>Paenibacillus ehimensis</i> ИБ-739	10.0	25.9	4.4	20.46
Контроль	10.0	21.5	-	-

Библиографический список (References)

Боронин А.М. Ризосферные бактерии рода *Pseudomonas*, способствующие росту и развитию растений // Соросовский образовательный журнал, 1998. N 10. С. 25–31.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 108

BACTERIA OF THE GENUS *PSEUDOMONAS* AS PROMISING AGENTS FOR BIOLOGICAL CONTROL OF DISEASES AND ENHANCED PRODUCTIVITY IN AGRICULTURE

L.F. Minnebaev

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, linar00711@gmail.com

The aim of the work is to study the bacteria of the genus *Pseudomonas* as for biological control of diseases and enhanced productivity in agriculture. To evaluate the efficacy of the preparations based on bacteria of the genus *Pseudomonas* bioassays were carried out using spring wheat under conditions of industrial growing. These assays showed remarkable yield increase when using *Pseudomonas chlororaphis* ИБ-51 and *Pseudomonas corensis* ИБ-4.

УДК 575.22

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ *PYRENOPHORA TERES* F. *TERES* К НОВОМУ РАСТЕНИЮ-ХОЗЯИНУ – ПШЕНИЦЕ

Н.В. Мироненко, Н.М. Коваленко, Л.А. Михайлова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, nina2601mir@mail.ru.

Охарактеризована генетическая дифференциация популяций *P. teres*, выделенных из пораженных пятнистостями листьев яровой пшеницы и ячменя. Методами RAPD и УП-ПЦР генотипировали 41 изолят *P. teres*, предварительно отнесенных нами к форме *P. teres* f. *teres* с помощью молекулярной диагностики. На дендрограмме, построенной по 29 полиморфным анонимным локусам, были выявлены четкие кластеры для «пшеничных» и «ячменных» изолятов. С помощью программы AMOVA обнаружены различия между популяциями по частотам отдельных аллелей. Коэффициент генетической дифференциации (F_{st}) между популяциями с ячменя и яровой пшеницы, произрастающих на близком расстоянии друг от друга, составил 0.26, что свидетельствует о наличии существенных генетических различий между «ячменной» и «пшеничными» популяциями патогена.

Ключевые слова: *Pyrenophora teres* f. *teres*, новый патоген пшеницы, генотипирование, RAPD, УП-ПЦР, AMOVA.

Ранее нами при изучении желтой пятнистости пшеницы наряду с основным возбудителем этой болезни – аскомицетным грибом *Pyrenophora tritici-repentis* был выделен родственной вида гриба – *P. teres*. Гриб *P. teres* является обычным патогеном ячменя, распространенным практически во всех районах производства этой культуры. «Пшеничные» изоляты *P. teres* отличались от «ячменных» большей вирулентностью на пшенице и большими размерами конидий [Михайлова и др., 2010; Мироненко и др., 2014]. Цель исследования – изучить генетическую специализацию изолятов *Pyrenophora teres* пшеничного и ячменного происхождения, собранных в Северо-западном регионе РФ, с помощью молекулярных маркеров.

Пораженные листья ячменя и пшеницы (яровой) были собраны в 2013 г на делянках Батецкого ГСУ Новгородской обл. Выделение гриба из пораженных листьев ячменя и пшеницы проводили по методу Л. А. Михайловой и соавторов [2002]. Для молекулярной идентификации вида *P. teres* и его двух форм использовали праймеры, специфичные к *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* [Williams et al., 2001]. Диагностический продукт амплификации для *P. teres* f. *teres* составляет 378 п.н., для *P. teres* f. *maculata* – 411 п.н. ДНК выделяли из мицелия 7–10 суточной культуры моноконидиальных изолятов гриба по известному методу [Bulat et al., 1998]. Генотипирование изолятов проводили с помощью методов RAPD и УП-ПЦР. Использовали 5 случайных (OPA-08, OPA-09, OPA-10, OPI-9, OPI-10, Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA) и 2 универсальных (AS4, AS15inv) [Bulat et al., 1998] праймера. Коэффициент генетической дивергенции F_{st} рассчитывали с помощью пакета программ Arlequin v. 3. Для построения дендрограмм генетического родства изолятов *P. teres* использовали программу Treecon v.3. Из пораженных пятнистостью листьев

ячменя и пшеницы были выделены 41 моноконидиальный изолят вида *P. teres*. С помощью видоспецифичных праймеров показано, что все они относятся к форме *P. teres* f. *teres*. Изолятов *P. teres* f. *maculata* обнаружено не было.

Нами охарактеризована генетическая дифференциация образцов изучаемых популяций *P. teres*. В результате генотипирования 22 «ячменных» и 19 «пшеничных» изолятов *P. teres* f. *teres* была составлена бинарная матрица различий по 29 полиморфным анонимным локусам (продуктов амплификации). На дендрограмме «пшеничные» (W) и «ячменные» (H) изоляты сгруппировались в отдельные кластеры. Значения бутстрепов в основных узлах дерева были несущественны (менее 50), тем не менее, на уровне 20–30% по шкале различий изоляты объединяются в группы строго по происхождению (растению-хозяину) с высокими показателями достоверности (бутстрепа более 50). Среднее генное разнообразие (H) было одинаковым для обеих популяций: для «ячменной» $H=0.26\pm 0.14$, для «пшеничной» $H=0.23\pm 0.13$. Клональная фракция гаплотипов по 29 локусам составила 14% в «ячменной» популяции и 26% – в «пшеничной». Различия между популяциями были обнаружены по частотам отдельных аллелей с помощью программы AMOVA (пакет программ Arlequin). Коэффициент генетической дифференциации (F_{st}) между популяциями с ячменя и яровой пшеницы составил 0.26, что свидетельствует о наличии существенных генетических различий между «ячменной» и «пшеничными» популяциями. Мы считаем, что полученные результаты свидетельствуют о начале процесса генетической специализации гриба *P. teres* в качестве нового патогена пшеницы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00399а.

Библиографический список (References)

- Михайлова Л.А., Гуляева Е.А., Кокорина Н.М. Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* // Микол. и фитопатол., 2002, 36, 1, с. 63–67.
- Михайлова Л.А., Тернюк И.Г., Мироненко Н.В. *Pyrenophora teres* – возбудитель пятнистости листьев пшеницы // Микол. и фитопатол., 2010. Т. 44 N 1. С. 63–68.
- Bulat S.A., Lubeck M., Mironenko N., Jensen D.F., Lubeck P.S. UP-PCR analysis and ITS1 ribotyping of strains of *Trichoderma* and *Gliocladium* // Mycol. Res., 1998. V. 102. P. 933–943.
- Williams K. J., Smyl C., Lichon A., Wong K. Y., Wallwork H. Development and use of an assay based on the polymerase chain reaction that differentiates the pathogen causing spot form and net form of net blotch of barley // Austral. Plant Pathol., 2001. V. 30. P. 37–40.
- Мироненко Н.В., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А. Морфологическая и генетическая характеристика изолятов *Pyrenophora teres* f. *teres*, поражающих пшеницу // III всероссийская и международная конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам», посвященная 125-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, 23–26 октября 2012 г. с. 149–152.

GENETIC SPECIALIZATION OF *PYRENOPHORA TERES* F. *TERES* TO THE NEW PLANT-HOST – WHEAT

N.V. Mironenko, N.M. Kovalenko, L.A. Mikhailova

All-Russian Institute of Plant Protection, nina2601mir@mail.ru

Genetic differentiation of *Pyrenophora teres* populations, isolated from diseased leaf spot of spring wheat and barley is characterized. 41 isolates of *P. teres* were assigned to *P. teres* f. *teres* using molecular diagnostics. Further genotyping using RAPD and UP-PCR techniques showed clear differentiation of “wheat” and “barley” isolates as two clusters in dendrogram constructed on the 29 polymorphic anonymous loci (amplification products). Using AMOVA program differences between the populations in individual allele frequencies were detected. The coefficient of genetic differentiation (*F*_{st}) between populations from barley and spring wheat was 0.26, suggesting significant genetic differences between the “barley” and “wheat” populations. We consider these data as an evidence of the beginning of *P. teres* genetic specialization as a new pathogen of wheat.

УДК 632.7.05

ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ МЕТАБОЛИТОВ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ РЕАКЦИЮ СОСУЩИХ НАСЕКОМЫХ

Г.В. Митина, Е.А. Степанычева, М.О. Петрова, А.А. Чоглокова, Г.Р. Леднёв

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, galmit@rambler.ru

Экспериментально показано, что летучие *Beauveria bassiana* обладают репеллентными свойствами в отношении цветочного трипса *Frankliniella occidentalis*, персиковой тли *Myzus persicae* и аттрактивными – для злаковой тли *Schizaphis graminum*. Летучие метаболиты *Metarhizium anisoplaeae* достоверно увеличивают привлечение персиковой тли и вызывают отрицательную реакцию у злаковой тли и трипса. У *Lecanicillium muscarium* не выявлено способности влиять на поведенческую реакцию трипса, персиковой тли, а в отношении злаковой тли отмечено слабое аттрактивное действие.

Ключевые слова: *Lecanicillium muscarium*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisoplaeae*, репеллентный и аттрактивный эффекты, злаковая и персиковая тли, западный цветочный трипс.

Взаимоотношения энтомопатогенных грибов (ЭГ) с насекомыми достаточно сложны, что обусловлено взаимным влиянием факторов, связанных со специализацией патогенов, с условиями внешней среды, и с защитными реакциями насекомых. Известно, что ряду ЭГ свойственно продуцировать различные метаболиты, к которым относятся не только токсины и антибиотики, но и летучие органические соединения (ЛОС), способные влиять на поведенческие реакции насекомых в природе (аттрактанты и репелленты) [Boucias, et al., 2012; Ormond et al., 2011; Yanagawa et al., 2009; 2012; Jacobsen et al., 2014]. Изучение поведенческих реакций насекомых имеет важное значение при разработке стратегии применения ЭГ против вредителей.

В настоящей работе проанализировано влияние летучих метаболитов трех видов ЭГ, широко используемых для получения биопрепаратов в защите растений, на поведенческую реакцию обыкновенной злаковой тли *Schizaphis graminum*, персиковой тли *Myzus persicae* и цветочного трипса *Frankliniella occidentalis*. Были выбраны типовые культуры грибов: *Lecanicillium muscarium* штамм VI 21, *Beauveria bassiana* штамм ВУ-06 и *Metarhizium anisoplaeae* штамм MaScg. Энтомологические тест-объекты содержали в термостатированном помещении с температурой +22±2 °С и продолжительностью светового дня 16–18 часов. Злаковую тлю содержали на проростках пшеницы, персиковую – на проростках бобов, трипса – на растениях фасоли. При оценке ольфакторной реакции насекомых на ЛОС грибов в чашки Петри на влажную фильтровальную бумагу раскладывали по 2 листовых диска кормовых рас-

тений. На один лист помещали блок 7-суточной грибной культуры, выращенной на среде Чапека, диаметром 9 мм, на другой – блок питательной среды. В центр чашки, на одинаковом расстоянии от листьев, выпускали, в соответствии с вариантом, по 20 самок тлей или по 10 личинок трипсов. Опыты проводили в 10 повторностях. Учет распределения насекомых на листьях проводили через 2 часа. Индекс агрегирования (ИА) рассчитывали по формуле: $IA = [(O-K)/(O+K)] \times 100$, где O – количество насекомых на опытном листе; K – количество насекомых на контрольном листе [Pascual-Villalobos, Robledo, 1998].

Летучие соединения *B. bassiana* (ВУ-06) проявили четкую выраженную репеллентность в отношении персиковой тли и трипса, для которых ИА соответственно составляет -47.6 и -20.0 (табл.). В то же время, ЛОС этого гриба для злаковой тли были умеренно аттрактивными (статистически не достоверными). Штамм MaScg *M. anisoplaeae*, по нашим данным, характеризовался репеллентной активностью для трипса и злаковой тли, но сильным аттрактивным действием для персиковой тли (ИА=39.2). Тестирование штамма VI 21 гриба *L. muscarium* не выявило способности оказывать существенное влияние на поведенческую реакцию сосущих фитофагов. Зафиксирована лишь слабая (статистически не достоверная) аттрактивность в отношении злаковой тли (табл.).

По литературным данным репеллентный эффект ЭГ проявляется чаще, чем аттрактивный, и, возможно, связан с повышенной патогенностью ЭГ для конкретных видов насекомых. Виды *B. bassiana* и *M. anisoplaeae* имеют ши-

рокий спектр хозяев, причем изученные штаммы ВУ-06 и MaScg характеризуются высокой патогенностью в отношении различных видов жуков. Важно в дальнейшем оценить их патогенность в отношении злаковой и персиковой тлей и цветочного трипса. *L. muscarium* проявляет в отношении различных представителей отряда Hemiptera определенную специализацию, которая связана в первую

очередь со средой обитания насекомых и требованиям к определенным влажностным и температурным диапазонам. В отношении злаковой тли *L. muscarium* проявляет слабую патогенность и, возможно, этот вид тли может участвовать в процессе пассивного переноса инфекции, с чем может быть связан аттрактивный эффект гриба.

Таблица. Характер поведенческой реакции фитофагов на ЛОС энтомопатогенных грибов

Вид гриба	Количество привлеченных особей, %					
	Трипса		персиковой тли		злаковой тли	
	Опыт ¹	Контроль ²	Опыт ¹	Контроль ²	Опыт ¹	Контроль ²
<i>Metarhizium anisoplaea</i>	3.2±0.33 p = 0.06797, F = 3.77095 ИА -18.99 (P)	4.7±0.76	7.1±1.13* p = 0.0111, F = 8.0089 ИА 39.2 (A)	3.1±0.85	6.9±0.50* p = 0.00053, F = 17.68559 ИА -17.9 (P)	9.9±0.50
<i>Lecanicillium muscarium</i>	3.3±0.3 p = 0.36183, F = 0.87549 ИА 7.0 (H)	3.8±0.44	6.0±0.58 p = 0.68638, F = 0.1684 ИА -2.4 (H)	6.3±0.45	9.4±1.54 p = 0.33487, F = 0.98187 ИА 11.0 (A)	7.5±1.15
<i>Beauveria bassiana</i>	3.8±0.47* p = 0.0265, F = 5.83303 ИА -20.0 (P)	5.7±0.636	2.0±0.36* p = 0.02542, F = 5.9389 ИА -47.6 (P)	5.6±1.43	10.8±0.92 p = 0.09727, F = 3.06014 ИА 10.8 (A)	8.7±0.77 б

Примечание: * – достоверное различие с контролем, при $p < 0.05$

¹энтомопатогенные грибы на среде Чапека; ²питательная среда Чапека.

Библиографический список (References)

Boucias D. G., Lietze V., Teal P. Chemical Signals that Mediate Insect-Fungal Interactions. In Biocommunication of Fungi. Witzany G. (ed.). Springer. 2012. 305–336.
 Jacobsen S., Eilenberg J., Klingen I., Sigsgaard L. Different behavioral responses in specialist and generalist natural enemy interactions (predators and fungi) in a strawberry-mite pest system. 2014. P.60.
 Pascual-Villalobos, M.J., and A. Robledo. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. Industrial Crops and Products 1998. 183–194.

Ormond EL, Thomas APM, Pell JK, Freeman SN, Roy HE. Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata*. FEMS Microbiol Ecol. 2011. 77:229–237.
 Yanagawa A, Fujiwara-Tsujii N, Akino T, Yoshimura T, Yanagawa T, et al. Odor Aversion and Pathogen-Removal Efficiency in Grooming Behavior of the Termite *Coptotermes formosanus*. PLoS ONE 2012. 7(10): e47412.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 110–111

THE IMPACT OF VOLATILE METABOLITES FROM THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ON THE BEHAVIORAL RESPONSES OF THE SUCKING INSECTS

G.V. Mitina, E.A. Stepanycheva, M.O. Petrova, A.A. Choglokhova, G.R. Lednev

All-Russian Institute of Plant Protection, galmit@rambler.ru

The volatile compounds of *B. bassiana* clearly repelled peach aphid and thrips and moderately attracted cereal aphids. *M. anisoplaea* showed repellent activity for cereal aphids and thrips and strong attractive effect for peach aphid. *L. muscarium* showed no ability to modulate on the behavioral response of sucking pests, with exception of feeble attraction of cereal aphid.

УДК 577.218

СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ МЕТОДОМ ПОГРУЖЕНИЯ ЦВЕТКОВ И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПЕРЕДАЧИ ТРАНСГЕНОВ ОТ РАПСА К РОДСТВЕННЫМ РАСТЕНИЯМ

Е.В. Михайлова¹, А.М. Денисов²

¹Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

²Башкирский государственный университет, Уфа, Россия, mikhele@list.ru

Эффективность метода погружения цветков составила 10% для рапса, 2% для эруки и 1.4% для амаранта. Частота гибридизации с близкородственными видами была выше при использовании рапса, растущего как рудеральное растение.

Ключевые слова: погружение цветков, floral dip, *Brassica napus*, *Brassica rapa*, *Brassica juncea*, *Eruca sativa*, *Amaranthus rethrolifolius*, трансгенные растения.

Генная инженерия является наиболее перспективным способом повышения продуктивности сельскохозяйствен-

ных культур. При этом появляются все новые, более эффективные и простые способы создания генетически мо-

дифицированных растений, одним из которых является метод погружения цветков (floral dip) [Li et al., 2010]. Однако при создании генетически модифицированных растений необходимо учитывать экологические риски [Warwick et al., 2009], из которых наиболее заслуживающим внимания является риск вертикального переноса генов к нетрансгенным растениям в дикой природе и агроэкосистемах. Наиболее перспективными в плане экологической безопасности представляются ГМ-сорты с новыми признаками, не дающими эволюционных преимуществ, например, сорта растений, продуктивность которых повышается благодаря улучшению параметров роста за счет изменения уровня экспрессии генов, участвующих в регуляции клеточного деления и растяжения. Для этого можно использовать гены белков с OSR-доменом. Например, ген *ARGOS-LIKE (ARL)* растения *Arabidopsis thaliana* кодирует трансмембранный белок, участвующий в передаче сигналов от фитогормонов к генам – преимущественно от брассиностероидов на ген *TCH4 (AtXTH22)*, кодирующей одну из ксилоглюканэндотрансгликозилаз *A. thaliana*. В свою очередь, ксилоглюканэндотрансгликозилазы принимают участие в обеспечении растяжения клеточной стенки при росте клеток. Сверхэкспрессия этого гена способствует увеличению размеров надземных органов растений за счет положительного влияния на рост клеток растяжением [Кулуев и др., 2013].

Была создана генно-инженерная конструкция на основе бинарного вектора pCambia 1301 с геном устойчивости к гигромицину, содержащая промотор вируса мозаики георгина, сайт полиаденилирования 35S PHK вируса мозаики цветной капусты и целевой ген *ARGOS-LIKE A. thaliana*. Для трансформации использовали хозяйственно-ценные растения: *Brassica napus* (рапс), *Eruca sativa* (эрука посевная) и *Amaranthus rethroliflexus* (амарант). Трансформацию осуществляли начиная с момента перехода к стадии бутонизации и до наступления периода интенсивного цветения. Соцветия растений погружали в суспензию агробактерий с добавлением 0.075 мкМ ацетосирингона, 0.1–0.2% силвета, 100 нг/л 6-БАП и 30г/л сахарозы. Затем соцветия оборачивались полиэтиленовой пленкой на сутки. После созревания семян осуществлялся их ручной сбор. Семена проращивали в климатикамуре при температуре 23 °С с освещенностью 5 клк и фотопериодом 16/8 часов (свет/темнота), предварительно подвергнув их обработке селективным антибиотиком гигромицином в концентрации 100–500 мг/л в течение суток. У нетрансгенных проростков наблюдалось побеление первых настоящих листьев. Наиболее эффективной оказалась трансформа-

ция и отбор проростков рапса сортов «Рагник» и «Нанпа»: трансгенными оказывались в среднем 10% семян, точность отбора составила 89%. Традиционными методами для этих сортов удалось трансформировать только 1–2% эксплантов. Эффективность трансформации *E. sativa* методом погружения цветков составила 2%. Эффективность трансформации *A. rethroliflexus* составила 1.4%, при этом у данного вида воздействие селективного антибиотика проявлялось слабо, и точность визуального отбора составила лишь 20%.

Таким образом, метод погружения цветков наилучшим образом подходит для трансформации рапса. Однако при создании его трансгенных сортов следует учитывать, что как сорные, так и культурные родственники рапса, размножающиеся перекрестным опылением, встречаются повсеместно. Более того, потери семян при транспортировке могут приводить к образованию свободноживущих популяций трансгенных растений по краям дорог [Warwick et al., 2009]. В многочисленных зарубежных исследованиях была показана возможность образования плодородных жизнеспособных гибридов рапса и родственных видов *Brassica rapa* и *Brassica juncea*, а также сохранения устойчивости к гербицидам у нескольких поколений потомков трансгенных гибридов даже при отсутствии селективного давления. Тем не менее, в России такие исследования никогда не проводились.

Поскольку рапс может произрастать не только в агроэкосистемах, но и в качестве рудерального растения, возможность вертикального переноса трансгенов к родственным растениям была изучена нами на двух экспериментальных участках, которые различались по количественному соотношению трансгенного рапса и нетрансгенных растений, а также расстоянием между группами растений.

Следует отметить, что частота гибридизации созданных нами трансгенных растений рапса и нетрансгенных родственных растений была не выше, чем в аналогичных зарубежных исследованиях. Трансгенные гибриды имели сниженный вес, размер и всхожесть семян. Эти параметры различались у каждого гибрида, однако ни один из них не превосходил родительские растения. Поскольку межвидовая гибридизация чаще наблюдалась в условиях рудеральных экосистем (табл.), при возделывании трансгенного рапса особое внимание необходимо уделять мерам по предотвращению возникновения его свободнорастущих популяций.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ мол_a (16-34-00404).

Таблица. Сравнение общей частоты гибридизации с рапсом нетрансгенных растений в различных условиях произрастания

Доля трансгенных семян в рудеральных экосистемах	Вид растения	Доля трансгенных семян в агроэкосистемах
0.6 %	<i>B. juncea</i>	0.18 %
1 %	<i>B. rapa</i>	0.019 %
0.04 %	<i>B. napus</i>	0.25 %

Библиографический список (References)

- Кулуев Б.Р., Князев А.В., Сафиуллина М.Г., Чемерис А.В. Влияние конститутивной экспрессии гена *ARGOS-LIKE* на размеры клеток и органов трансгенных растений табака // Генетика, 2013. Т. 49. N. 5. С. 587–594.
- Li J., Tan X., Zhu F., Guo J. A rapid and simple method for *Brassica napus* floral-dip transformation and selection of transgenic plantlets // International Journal of Biology, 2010. V. 2. N.1. P. 127.
- Warwick S. I., Beckie H.J., Hall L. M. Gene flow, invasiveness, and ecological impact of genetically modified crops // Annals of the New York Academy of Sciences, 2009. V.1168. N1. P. 72–99.

DEVELOPMENT OF TRANSGENIC PLANTS USING FLORAL DIP METHOD AND ESTIMATION OF PROBABILITY OF GENE FLOW FROM TRANSGENIC CANOLA

E.V. Mikhaylova¹, A.M. Denisov²

¹*Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS*

²*Bashkir State University, mikhele@list.ru*

Floral dip method success rate was 10% when used on canola, 2% when used on eruca and 1.4% when used on amaranthus. Hybridization frequency with related species was higher when canola grew as a ruderal plant.

УДК 632.938.1

РЕАКЦИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ТОМАТА НА КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ФИЛЬТРАТЫ ГРИБОВ *ALTERNARIA ALTERNATA* И *FUSARIUM SPP.*

Н. Михня, Г. Лупашку, С. Григорча

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, igfpp@yahoo.com, mihneanadea@yahoo.com

Цель исследований – выявление сортов томата с комплексной устойчивостью к патогенам *Alternaria alternata* и *Fusarium spp.* Оценивались сорта, созданные методом межсортовой гибридизации. Для заражения семян были использованы культуральные фильтраты грибов *Alternaria alternata* и *Fusarium spp.*, выделенные соответственно из листьев и корней растений томата с признаками поражения. Выявлена существенная дифференциация сортов томата по степени реакции на использованные изоляты грибов. Сделан вывод о том, что генотипы Tomis и Mihaela с наименьшей чувствительностью к КФ патогенов могут быть использованы в качестве потенциальных доноров резистентности к фузариозу и альтернариозу.

Ключевые слова: генотипы томата, устойчивость, патогены, *Alternaria alternata*, *Fusarium spp.*

В благоприятные годы для развития грибных болезней альтернариоз и фузариоз приносят большой ущерб культуре томата в условиях Республики Молдова [Лупашку и др., 2008]. Для успешного создания высокопродуктивных и устойчивых к грибным заболеваниям сортов необходимо на начальных этапах селекционного процесса выявлять и в дальнейшем использовать генотипы, сочетающие признаки резистентности и продуктивности [Mihnea et al., 2016]. Цель исследований состоит в выявлении сортов томата с комплексной устойчивостью к патогенам *Alternaria alternata* и *Fusarium spp.* по их реакции на культуральные фильтраты (КФ).

Было исследовано 6 сортов томата, созданных в Институте генетики, физиологии и защиты растений (ИГФЗР) АНМ методом межсортовой гибридизации. Для заражения семян были использованы культуральные фильтраты (КФ) грибов *Alternaria alternata* и *Fusarium spp.*, выделенные соответственно из листьев и корней растений томата с признаками поражения. Показатели роста и развития растений определяли на 6-дневных проростках. Данные были обработаны методом дисперсионного анализа в пакете программ STATISTICA 7.

В контрольном варианте всхожесть семян была достаточно высокой и варьировала в пределах 85.0–100.0%, что свидетельствует об их хорошем качестве (табл.). По длине зародышевого корешка изученные сорта практически не отличались за исключением сорта Mary Gratefully и Desteptarea, у которых данный показатель составил соответственно 43.5 и 40.9 мм. В вариантах с КФ гриба *F.*

oxysporum отмечено сильное ингибирование зародышевого корешка у сортов Tomis, Exclusiv, Desteptarea, Milenium; *F. solani* – Tomis, Exclusiv, Mihaela, Desteptarea, Milenium; *F. redolens* – Tomis, Exclusiv, Mary Gratefully, Milenium; *A. alternata* – Tomis, Exclusiv, Mihaela, Mary Gratefully, Milenium. В некоторых случаях выявлено стимулирующее действие КФ: сорта Mihaela (*F. redolens*), Mary Gratefully (*F. oxysporum*), Desteptarea (*F. redolens*, *A. alternata*). Реакция сортов на один и тот же КФ была довольно различной. Например КФ *F. oxysporum* и *F. solani* вызвали сильное ингибирование у сортов Exclusiv, Desteptarea, Milenium и несущественное ингибирование у сорта Mihaela, что свидетельствует о генетической детерминированности реакции. Длина стебелька у изученных сортов в контрольном варианте варьировала в пределах 19.5...27.1 мм. Значения дисперсии свидетельствуют о том, что под действием КФ сорта проявили довольно дифференцированную реакцию и высокую вариабельность признака: в 20 случаях произошло ингибирование, а в 4-х – стимуляция роста стебелька. Сильное ингибирование под действием КФ *F. oxysporum* отмечено у Exclusiv, Desteptarea, Milenium; *F. solani* – Exclusiv и Milenim; стимуляция роста у – Tomis и Mihaela. Выявлено, что КФ *A. alternata* ингибировал рост стебелька у всех сортов (табл.).

Сделан вывод о том, что сорта Tomis и Mihaela наименее чувствительны к КФ изученных патогенов и могут быть использованы в качестве потенциальных доноров резистентности к фузариозу и альтернариозу.

Таблица. Влияние культуральных фильтратов грибов *Alternaria alternata* и *Fusarium* spp. на ростовые показатели томата

N	Вариант	Всхожесть, %	Длина зародышего корешка, мм		Длина стебелька, мм	
			$x \pm m_x$	S	$x \pm m_x$	S
Tomis						
1	H ₂ O (контроль)	100	37.7±1.8	189.1	20.8±1.0	55.7
2	FC <i>F. oxysporum</i>	88.3	32.6±2.4	297.2	15.6±1.2	66.2
3	FC <i>F. solani</i>	48.3	27.9±3.9	431.9	26.8±3.1	164.1
4	FC <i>F. redolens</i>	81.7	29.6±3.1	468.7	19.1±2.5	170.1
5	FC <i>F. alternata</i>	78.3	16.2±1.6	119.2	12.2±1.2	50.6
Exclusiv						
1	H ₂ O (контроль)	98.3	38.3±2.3	305.8	25.4±1.1	77.4
2	FC <i>F. oxysporum</i>	91.5	15.5±1.3	95.2	10.2±0.8	22.7
3	FC <i>F. solani</i>	71.2	13.6±1.6	113.9	14.3±2.0	72.9
4	FC <i>F. redolens</i>	89.8	25.6±3.1	527.1	15.8±1.9	128.7
5	FC <i>F. alternata</i>	100	31.3±2.6	395.2	18.6±1.5	116.4
Mihaela						
1	H ₂ O (контроль)	100	37.4±2.0	230.9	19.5±1.2	81.8
2	FC <i>F. oxysporum</i>	90.0	35.8±3.1	517.6	18.5±1.6	109.5
3	FC <i>F. solani</i>	55.0	33.3±4.2	583.3	23.3±1.2	27.5
4	FC <i>F. redolens</i>	88.3	44.2±3.4	604.2	23.6±1.6	112.0
5	FC <i>F. alternata</i>	90.0	31.8±2.3	292.3	16.7±1.3	78.7
Mary Gratefully						
1	H ₂ O (контроль)	91.7	43.5±2.7	399.2	26.8±1.3	94.6
2	FC <i>F. oxysporum</i>	92.7	46.6±2.7	460.7	23.3±1.4	105.6
3	FC <i>F. solani</i>	78.2	42.0±4.2	770.9	23.3±1.8	112.1
4	FC <i>F. redolens</i>	70.9	24.0±2.9	328.0	9.5±1.6	90.9
5	FC <i>F. alternata</i>	81.8	11.0±0.8	28.8	8.6±0.8	24.2
Desteptarea						
1	H ₂ O (контроль)	85	40.9±2.9	433.8	27.1±1.9	178.2
2	FC <i>F. oxysporum</i>	76.5	13.6±1.5	90.4	12.7±1.7	61.0
3	FC <i>F. solani</i>	80.4	21.6±3.0	360.8	23.8±2.3	120.4
4	FC <i>F. redolens</i>	80.4	56.3±3.3	453.2	28.2±1.8	136.5
5	FC <i>F. alternata</i>	100	53.6±3.9	776.9	26.6±1.7	136.8
Milenium						
1	H ₂ O (контроль)	86.7	36.9±2.8	403.3	22.9±1.4	100.7
2	FC <i>F. oxysporum</i>	98.1	13.9±1.03	55.1	8.9±0.8	18.0
3	FC <i>F. solani</i>	73.1	14.0±2.1	161.2	13.8±3.7	149.0
4	FC <i>F. redolens</i>	84.6	27.3±2.7	329.1	17.2±1.6	89.4
5	FC <i>F. alternata</i>	103.8	26.1±2.5	346.0	15.7±1.5	84.3

Библиографический список (References)

- Лупашку Г.А., Ротару Л.И., Гавзер С.И. и др. Особенности взаимодействия генотипов томата с видами рода *Fusarium* в различных температурных условиях // Проблемы биоэкологии и пути их решения. Материалы международной научной конференции. Саранск. 15–18 мая 2008. – Саранск. 2008. с.249–250
- Mihnea N., Botnari V., Lupascu G. Tomato Varieties with High Indices of Productivity and Resistance to Environmental Factors // Ekin Journal of Crop Breeding and Genetics. 2016. 2(1). p.15–22

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 113–114

REACTION OF THE ADVANCED TOMATO VARIETIES TO THE *ALTERNARIA ALTERNATA* AND *FUSARIUM* SPP. CULTURE FILTRATES

N. Mihnea, G. Lupashku, S. Grigorcea

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, mihneanadea@yahoo.com

To reveals tomato varieties with complex resistance of *Alternaria alternata* and *Fusarium* spp. They were screened for sensibility to cultural filtrates of the respective pathogens. The tested varieties showed remarkable differentiation and most resistant genotypes Tomis and Mihaela man be used as resistance donors.

УДК 574.476

ВЛИЯНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ КУСТА РОЗЫ НА ДИНАМИКУ ПАУТИННОГО КЛЕЩА *TETRANYCHUS URTICAE* КОСН. И ХИЩНОГО КЛЕЩА *PHYTOSEIULUS PERSIMILIS* ATH.-HENR. В УСЛОВИЯХ МАЛООБЪЕМНОЙ ГИДРОПОНИКИ В ООО «АГРОЛИДЕР»

В.В. Моор, Е.Г. Козлова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия,
kategen_vizr@mail.ru, vladmoor@rambler.ru

Формирование куста розы при выращивании методом малообъемной гидропонике имеет значительное влияние на динамику паутинного клеща. Обрезка и пригибка побегов создает условия благоприятные для размножения вредителя, что требует увеличения норм внесения акарифага *Phytoseiulus persimilis* Ath.-Henr. В очаги размножения вредителей вносили до 90% от общей численности акарифага. Выращивание новых кустов так же требует повышенных норм внесения акарифага. На сорте Red Naomi потребовалось в целом в 6 раз больше *Phytoseiulus persimilis* на молодых растениях, чем на зрелых.

Ключевые слова: динамика численности, энтомофаги, защищённый грунт, биологическая защита растений.

Целью работы являлась оценка влияния ухода за культурой розы в онтогенезе растения при малообъемном способе выращивания, на паутинного клеща для оптимизации применения биологических средств и минимизации норм внесения акарифагов. Для этого оценивалась динамика численности паутинного клеща и фитосейулюса *Phytoseiulus persimilis* Ath.-H., на экспериментальном участке культуры розы, сорта Red Naomi.

Эксперимент проводился, в блочных стеклянных теплицах комплекса ООО «Агролидер» Санкт-Петербурга Выборгский район, п. Пушное. Обследования в опытных вариантах проводили 1 раз в месяц. Они заключались в визуальном осмотре растений и оценке их заселенности паутинным клещом по 5-ти балльной шкале. Нормы внесения фитосейулюса рассчитаны на выпуск 5–7 особей на 1 м² как профилактический и от 30 до 60 особей в очаги. Количество внесений от 2 до 4 в месяц в зависимости от степени размножения вредителя.

По различиям в динамике численности паутинного клеща экспериментальный участок был разделен на 3 участка. В начале эксперимента на всех 3-х участках численность вредителя была незначительной от 1.0 до 1.3 баллов (рис.). Через месяц концу января численность вредителя незначительно увеличивается на участке 1 до 1.7 баллов соответственно. Более значительный рост популяции паутинного клеща наблюдается только к середине февраля. Максимальное увеличение в 1.5 раза на 1-м участке минимальное в 1.2 раза на участке 2-м. В этот период вносится высокая норма акарифага, 39 особей на м. кв. из них 90% на 1-й участок. В середине марта ситуация меняется. На участке 2 наоборот численность паутинного клеща увели-

чивается в 1.96 раза и достигает максимальной позиции 2.3 балла, а на участке 1 этот показатель резко снижается в 1.4 раза. В этот период вносится 35 особей на м. кв. и 70% акарифага вносят на участок 2. Так же в этот период начинаются учеты вредителя на новом 3-м участке сорта Red Naomi, который был посажен в начале февраля. Численность паутинного клеща на этом участке в марте самая низкая и не превышает 1 балла, но в конце апреля, когда на участках 1 и 2 количество вредителя снижается до первоначального уровня, на этом участке с молодыми растениями начинается рост популяции паутинного клеща и продолжается до конца июня, достигая 2.3 баллов. За 3-х месячный период учетов на участке с новыми растениями на всю площадь эксперимента (сорта Red Naomi) вносится 63 особей на м. кв. фитосейулюса при этом 90% акарифага распределяется именно на этот новый участок с молодыми растениями. На старых участках с момента максимального снижения в конце апреля, численность вредителя не поднималась выше первоначального уровня и находилась на уровне пределах 1–1.3 балла (рис.).

Таким образом, наблюдалось перемещение очага вредителя с одного участка на другой. Анализируя ситуацию в теплице в связи с работами, проводимыми по уходу за растениями, было отмечено что на экспериментальном участке проводились работы по омоложению и формированию фабрики – вегетативной массы куста, путем пригибания вниз стеблей куста и обрезки старых побегов. Фабрика предназначена для продуктивного фотосинтеза. В результате этих работ на некоторое время верхняя часть куста, состоит только из молодых побегов высотой не более 15–20 см при этом увеличивается освещенность и

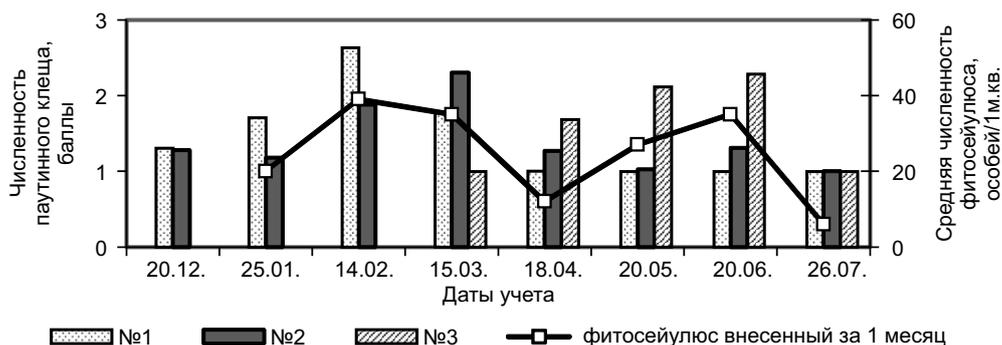


Рисунок. Динамика численности паутинного клеща и фитосейулюса на розах сорта Red Naomi

аэрация в продуктивной части куста и как влажность воздуха в этой зоне снижается. Такие условия благоприятны для активного размножения и развития паутиного клеща и возникновения очагов. На молодых посадках ситуация опаснее поскольку не только верхняя часть куста, но и фабрика не развита, и такое состояние куста гораздо продолжительнее (до 2–2.5 месяца после посадки), чем на зрелых растениях, где отрастание верхней части кустов происходит быстрее. Напротив, такие условия не благоприятны для развития и размножения хищника паутиного клеща – фитосейулюса. Снижение влажности до 50% является серьезным ограничивающим фактором поскольку не только негативно влияет на плодовитость самок, но также снижает выживаемость хищника на эмбриональной и личиноч-

ной стадиях развития [Колодочка Л.А., 1978, Прушинский, 1979].

Работы по уходу за розами выращиваемыми методом малообъемной гидропоники и включающие обрезку и пригибание побегов создают условия для массового размножения паутиного клеща. В связи с этим 70–90% хищника вносится именно в очаги паутиного клеща, что приводит к снижению численности вредителя до хозяйственно неощутимого уровня 1 балл в течение месяца. Молодые посадки роз требуют более высоких норм внесения акарифага для контроля численности вредителя – паутиного клеща в связи с более длительным формированием фабрики. На участке с молодыми посадками Red Naomi потребовалось акарифага в 6 раз больше (78 особей на 1 м. кв.), чем на зрелых посадках (11.8 особей на 1 м. кв.).

Библиографический список (References)

Колодочка Л.А. Руководство по определению растениеобитающих клещей – фитосейид. Киев, Наукова думка, 1978. с. 4–13.

Прушинский С.А. Интродукция *Phytoseiulus persimilis* А-Н. и его применение в борьбе с паутиным клещом в Польше. Доклады симпозиума. Киев, 1979, с. 128–141.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 115–116

EFFECT OF THE ROSE BUSH BUILDING ON DYNAMICS OF THE SPIDER MITE *TETRANYCHUS URTICAE* KOCH. AND THE PREDATORY MITE *PHYTOSEIULUS PERSIMILIS* ATH. – HENR. UNDER CONDITIONS OF SMALL-VOLUME HYDROPONICS IN «AGROLEADER» LTD CO

V.V. Moor, E.G. Kozlova

All-Russian Institute of Plant Protection, vladmoor@rambler.ru, kategen_vizr@mail.ru

Formation of a rose bush in the case of small-volume hydroponics has considerable effect on dynamics of spider mite. Cutting and bending down rose shoots create conditions favorable for the pest reproduction and necessitate an increase in the application rate of the acariphage *Phytoseiulus persimilis* Ath. – Henr. Therewith, up to 90% of the total number of the acariphage is to be released into hot spots of the pest. Cultivation of newly planted rose seedlings also suggests increased application rates of the acariphage. Therefore, on the rose cultivar Red Naomi the application rate of *Phytoseiulus persimilis* was 6-fold higher on younger plants than on older.

УДК 632.938.1

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИНДУКЦИИ МУТАЦИЙ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ОСНОВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ У ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ

Н.Н. Назаренко

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепропетровск, Украина, info@dsau.dp.ua

Цель: установление эффективности мутагенов в индукции мутаций по устойчивости к заболеваниям пшеницы мягкой озимой. Метод: обработка химическими мутагенами и гамма-лучами 7 сортов и одной линии пшеницы мягкой озимой. Результаты: Выделены мутантные формы, которые можно использовать в селекции на устойчивость к ряду заболеваний. Создана продуктивная линия пшеницы мягкой озимой с комплексной устойчивостью. Область применения: селекция и генетика растений. Выводы: для получения мутантных линий пшеницы озимой более целесообразно использовать химические мутагены. Наиболее эффективен 1,4-бисдиазоацетилбутан 0.1%.

Ключевые слова: мутационная селекция, пшеница мягкая озимая, устойчивость к заболеваниям.

С помощью экспериментального мутагенеза на данный момент в мире создано более 3000 сортов культурных растений. Данный метод достаточно эффективен в селекции по фактически всем основным хозяйственно-ценным признакам. В некоторых ситуациях добиться того же результата другими методами гораздо сложнее или не целесообразно [Моргун, Логвиненко, 1995]. Одной из основных

проблем для сортов пшеницы мягкой озимой продолжает оставаться недостаточная устойчивость к основным заболеваниям (не более 40% сортов демонстрируют высокую стойкость, примерно столько же – стойких, остальное приходится на долю среднестойких (не более 5 баллов) к мучнистой росе, бурой листовой ржавчине и септориозу) [Колючий и др., 2007]. Наиболее эффективным методов в

получении линий пшеницы мягкой озимой с устойчивостью к данным заболеваниям является обработка мутагенами [Моргун, Логвиненко, 1995, Boyd et al, 2006, Kinane et al, 2001]. Особено оправдан данный подход при использовании в качестве исходного материала высокопродуктивных сортов с недостаточной устойчивостью к заболеваниям [Моргун, Логвиненко, 1995, Smith et al, 2004].

Целью исследований было установить эффективность отдельных доз и концентраций мутагенов в индукции форм, устойчивых к наиболее распространенным заболеваниям.

Для обработки мутагенами использовали сухие семена следующих сортов пшеницы мягкой озимой Фаворитка, Ласуня, Хуртовина, линия 418, Колос Мироновщины, Сонечко и Калынова, Волошкова. Использовались дозы гамма-лучей 100, 150, 200, 250 Гр. концентрации ДАБ (1,4-бисдиазоацетилбутан) – 0.1и 0.2% и ДМС (диметилсульфат) – 0.0125, 0.025 и 0.05%. Экспозиция мутагенов составила 18 часов. Исследования проводились в 2010–2015 гг. на опытных полях Мироновского института пшеницы, научно-учебного центра Днепропетровского аграрно-экономического университета. Мутации идентифицировали визуально в первом – третьем поколении (M_1 – M_3) (ручной посев, длина рядка 1.5 м, повторность 1–3 кратная, контроль – исходный сорт через каждые 20 номеров), проводили фенологические наблюдения, оценку урожайности и её структуры в 4–6 поколения в мелкоделяночном опыте (площадь делянки 2.5–10 м², повторность 2–3 кратная, контроль – исходный сорт, стандарт сорт Подольянка через каждые 10 номеров). Частоту мутаций рассчитывали по отношению к числу семей, посеянных в M_2 . Оценку проводили по следующим заболеваниям: мучнистая роса, бурая листовая ржавчина и септориоз [Ткачик, 2014]. Значимое наличие данных заболеваний наблюдалось: в 2010–2011, 2013–2015 гг. – мучнистая роса, 2010, 2014–2015 бурая листовая ржавчина, 2010, 2014 – септориоз. Оценка проводилась по 9-балльной шкале.

Математическую обработку полученных результатов проводили по методу дисперсионного анализа, достовер-

ность разницы средних оценивали по критерию Стьюдента, группировку по характеру воздействия проводили методом кластерного анализа (при группировке материала по устойчивости). Использовали стандартный инструментарий программы Statistica 8.0.

В ходе исследования исходные сорта показали следующую среднесезонную устойчивость (соответственно – мучнистая роса, бурая листовая ржавчина, септориоз): Фаворитка (7, 7, 9), Ласуня (7, 7, 7), Хуртовина (7, 5, 7), линия 418 (5, 7, 7), Колос Мироновщины (5, 7, 5), Сонечко (7, 7, 7) и Калынова (7, 7, 5), Волошкова (5, 5, 5), национальный стандарт Подольянка (7, 7, 7). Наиболее высокую эффективность в индукции мутаций по устойчивости к болезням показал фактор ДАБ 0.1%, потом ДМС во всех трёх концентрациях. Менее эффективны НЭМ и НММ, наименее эффективны гамма-лучи, особенно в дозе 200–250 Гр. Более высокая частота мутаций по устойчивости к заболеваниям характерна для сортов Колос Мироновщины, Волошкова, линия 418. У остальных сортов частота мутаций была сопоставимой. В среднем по вариантам частота таких мутаций варьировала от 1% (Колос ДАБ 0.1%) до 0 (НММ, гамма-лучи).

Всего было получено 234 линии с более высокой стойкостью к заболеваниям. Из них, однако, только 21 с комплексной устойчивостью к двум и только 3 к трём фитопатогенам. Наибольшее число мутантных линий было получено с более высокой устойчивостью к мучнистой росе (139 линий), наименьшее – к септориозу (25 линий). Получена более высокоурожайная линия 174 (Ласуня, ДАБ 0.1%) с высокой устойчивостью к мучнистой росе и септориозу.

Таким образом, для индукции такого типа мутаций более эффективен химический мутагенез с использованием ДАБ и ДМС. Наиболее оптимально использование ДАБ 0.1%. Большая частота стойких форм наблюдается у сортов с более низкой исходной стойкостью. Однако такие мутанты не показывают нужного уровня урожайности.

Библиографический список (References)

- Колочий В.Т., Власенко В.А., Борсук Г.Ю. Селекція, насінництво і технологія вирощування зернових культур у Лісостепу України. Киев, Аграрна наука, 2007. 800 с.
- Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутаційна селекція пшениці. Киев, Наукова думка, 1995. 565 с.
- Ткачик С.О. Методика проведення фітопатологічних досліджень за штучного зараження рослин. К.: ТОВ «Нілан-ЛПД», 2014. 76 с.
- Boyd L.A., Smith P.H., Hart N. Mutants in wheat showing multipathogen resistance to biotrophic fungal pathogens // Plant Pathology, 2006. Vol.55. p. 475–484.
- Kinane J.T. Isolation of wheat mutants with increased resistance to powdery mildew from small induced variant populations // Euphytica, 2001. Vol. 117. p. 251–260.
- Smith P.H., Howie J.A., Warland A.J. Mutations in Wheat Exhibiting Growth-Stage-Specific Resistance in Biotrophic Fungal Pathogens // MPMI. 2004. Vol.17, N 11. p. 1242–1249.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 116–117

EFFICIENCY OF MUTATIONS INDUCTION FOR RESISTANCE TO MAIN WINTER WHEAT DISEASES

N.N. Nazarenko

Dnepropetrovsk State Agrarian and Economic University, info@dsau.dp.ua

Purpose: to establish the effectiveness of mutagens in the induction of mutations on disease resistance of winter wheat. Method: the treatment with chemical mutagens and gamma rays of 7 varieties and 1 line of winter wheat. Results: obtained mutant forms that can be used in breeding for resistance to several diseases. Winter wheat productive line with complex resistance to pathogens has been developed. Research area: plant breeding and genetics. Conclusions: for winter wheat mutant lines obtained using of chemical mutagens are more appropriate. The most effective was 1,4- bisdiazotsetilbutan 0.1%.

УДК 579.64

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ КОНСТИТУТИВНОЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *RAPA1* В КЛЕТКАХ МИКРОСИМБИОНТА *R. LEGUMINOSARUM* PVU5 НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ КЛУБЕНЬКОВ, НИТРОГЕНАЗНУЮ АКТИВНОСТЬ, БИОМАССУ И РОСТОВЫЕ ПАРАМЕТРЫ РАСТЕНИЙ ФАСОЛИ ОБЫКНОВЕННОЙ

Л.Р. Нигматуллина, А.М. Лавина, Э.Р. Сербаева, З.Р. Вершинина, Ал.Х. Баймиев

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, molgen@anrb.ru

Целью данной работы было получение микросимбионтов с повышенной продукцией белка-адгезина RapA1 и анализ эффективности образования клубеньков данными рекомбинантными микросимбионтами на бобовых растениях, и впоследствии анализ нитрогеназной активности и ростовых параметров опытных растений. В ходе выполнения исследования использовался широкий ряд современных биохимических, молекулярно-биологических и прочих методов и технических подходов. В результате проведенной работы из микросимбионта фасоли обыкновенной *Rhizobium leguminosarum* PVu5 был выделен ген белка-адгезина *rapA1*. Данный ген был клонирован в вектор, которым впоследствии трансформировали данные бактерии, чтобы получить штаммы с конститутивной экспрессией белка RapA1. Обнаружено положительное влияние повышенной выработки белка RapA1 в *R. leguminosarum* PVu5 на образование клубеньков и ростовые параметры растений фасоли: обработка семян растений рекомбинантными ризобактериями увеличило количество клубеньков вдвое, а ростовые параметры на 52% по сравнению с контролем. Разработанный подход позволяет получать штаммы ризобий, с повышенной экспрессией гена *rapA1*, которые могут успешнее колонизировать корневую систему растений, чем «дикие» штаммы, тем самым оказывая положительное влияние, как на образование клубеньков, так и на рост биомассы и урожайности растений в целом, что существенно расширяет границы применения рекомбинантных бактерий в качестве биоудобрений.

Ключевые слова: клубеньковые бактерии, адгезин, агглютинация, рекомбинантные бактерии, биоудобрения, генная инженерия.

Адгезин *RapA1* относится к семейству Rap белков, которые обнаружены только у ряда близкородственных штаммов из рода *Rhizobium*: *R. leguminosarum* bvs. *trifolii*, *viciae*, *phaseoli* и *Rhizobium etli*. В естественных условиях белок RapA1 распознает полисахариды на поверхности бактерий и способствует агглютинации ризобий через клеточные полюса [Ausmees et al., 2001].

Для получения штаммов бактерий с конститутивной экспрессией гена *rapA1* в качестве основы для плазмидной конструкции был использован созданный ранее в лаборатории вектор pJN105TurboGFP на основе плазмиды широкого круга хозяев pJN105, содержащий ген флуоресцентного белка серии TurboColors: TurboGFP [Баймиев и др., 2011]. С этой целью с помощью Pfu-полимеразы была амплифицирована кодирующая часть гена *rapA1* из ДНК *R. leguminosarum* штамма PVu5, выделенного из клубеньков фасоли обыкновенной. Затем амплифицированную ДНК клонировали в промежуточный вектор pAL-TA. Далее из плазмиды pJN105TurboGFP с помощью рестриктаз *Bam*HI и *Hind*III вырезали ген флуоресцентного белка *gfp* и на его место под управление сильного конститутивного промотора фага PT5 переклонировали ген *rapA1*. Для дальнейших опытов полученной плазмидой pJN105TurboRapA1 был трансформирован использованный для выделения гена *rapA1* микросимбионт фасоли *R. leguminosarum* PVu5.

Нами проведена проверка влияния конститутивной экспрессии гена *rapA1* в клетках микросимбионта на эффективность образования клубеньков, нитрогеназную активность, биомассу и ростовые параметры растений (обобщенные данные показаны в табл.). Для этого растения фасоли обработали исходным (*R. leguminosarum* PVu5) и рекомбинантным штаммом ризобий (*R. leguminosarum* PVu5+RapA1), в качестве контроля служили растения, не обработанные бактериями. Через месяц после закладки опыта были проведены замеры всех перечисленных показателей. У необработанных контрольных растений фасоли клубеньки отсутствовали. Во всех остальных ва-

риантах опытов клубеньки на корнях формировались, но их количество у растений фасоли, обработанных штаммом *R. leguminosarum* PVu5+RapA1, было примерно в 2 раза больше, чем у растений, инокулированных исходным штаммом *R. leguminosarum* PVu5.

Кроме того, было замечено, что у контрольных растений тормозился рост. Опытные растения, обработанные штаммом *R. leguminosarum* PVu5, достигали фазы цветения раньше и имели большие ростовые параметры, а растения фасоли, обработанные рекомбинантными ризобиями *R. leguminosarum* PVu5+RapA1, имели большее количество бутонов и, заметно, большие размеры. Полученные нами данные показывают, что обработка растений штаммами *R. leguminosarum* с повышенной экспрессией RapA1 увеличивает количество клубеньков и, соответственно, нитрогеназную активность, что, возможно, связано с лучшей адсорбцией ризобий на поверхности корней на начальных этапах симбиоза. Несомненно, улучшение ростовых параметров, сырой и сухой биомассы связано с улучшением азотного питания растений. Подобные эксперименты ранее проводились на клевере (*Trifolium pratense*), где повышенная конститутивная экспрессия гена *rapA1* в плазмиде pHC60 положительно влияло на конкурентоспособность штаммов ризобий *R. leguminosarum* bv. *trifolii* и *R. etli*, а также было показано увеличение адсорбционной способности бактерий к корням растений. Однако подсчета количества образовавшихся клубеньков не проводилось [Mongiardini et al., 2008, 2009].

Полученные данные не оставляют сомнений в том, что бактериальный адгезин RapA1 *R. leguminosarum* возможно использовать в качестве инструмента биоинженерии для улучшения эффективности формирования существующих эндосимбиозов.

Исследования проводились при финансовой поддержке грантов РФФИ №№ 14-04-9700-п_поволжье_a и № 16-04-00902-а.

Таблица. Влияние конститутивной экспрессии гена *rapA1* в клетках микросимбионта на эффективность образования клубеньков, нитрогеназную активность, биомассу и ростовые параметры растений

Штаммы бактерий для обработки растений фасоли	Количество клубеньков (шт)	Длина стебля (см)	Сырая биомасса (г)	Сухая биомасса (г)	Нитрогеназная активность (мкг N ₂ /мл/час)
контроль	–	13±0.7	3.6±0.4	0.72±0.15	–
<i>R. leguminosarum</i> PVu5	7±2	16±2.3	5.8±0.8	0.92±0.12	0.03±0.003
<i>R. leguminosarum</i> PVu5+RapA1	15±3	25±3.1	8.1±0.5	2.8±0.17	0.062±0.018

Библиографический список (References)

- Баймиев А.Х., Ямиданов Р.С., Матниязов Р.Т., Благова Д.К., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Получение флуоресцентно меченых штаммов клубеньковых бактерий дикорастущих бобовых для их детекции *in vivo* и *in vitro* // Молекулярная биология, 2011. Т. 45. N 6. С. 984–991.
- Ausmees N., Jacobsson K., Lindberg M. A unipolarly located, cell-surface-associated agglutinin RapA belongs to a family of *Rhizobium*-adhering proteins (Rap) in *Rhizobium leguminosarum* bv *trifolii* // Microbiology, 2001. V. 147. P. 549–559.
- Mongiardini E.J., Ausmees N., Perez-Gimenez J. The rhizobial adhesion protein RapA1 is involved in adsorption of rhizobia to plant roots but not in nodulation // FEMS Microbiol Ecol, 2008. V.65. P. 279–288.
- Mongiardini E.J., Perez-gimenez J., Althabegoiti M.J., Covelli J., Quelas J.I., Lopez-garcia S.L., Lodeiro A. Overproduction of the rhizobial adhesion RapA1 increases competitiveness for nodulation // Soil Biology and Biochemistry, 2009. V.41. P. 2017–2020.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 118–119

ANALYSIS OF THE INFLUENCE OF CONSTITUTIVE EXPRESSION OF *RAPAI* GENE IN *R. LEGUMINOSARUM* PVU5 ON THE EFFICIENCY OF NODULATION, NITROGENASE ACTIVITY, BIOMASS AND GROWTH PARAMETERS OF *PHASEOLUS VULGARIS* L. PLANTS

L.R. Nigmatullina, A.M. Lavina, E.R. Serbaeva, Z.R. Vershinina, Al.K. Baymiev

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, molgen@anrb.ru

Developed approach produces rhizobia strains with increased expression of the gene *rapA1*, which can effectively colonize the root system of the plant as compared to the «wild» strains, thereby exerting a positive influence both on the nodulation and growth of the biomass and plant yield, significantly expands the application of recombinant bacteria as biofertilizers.

УДК 575.22

ВЫЯВЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО РАКА ТОМАТА МЕТОДОМ ПЦР В ФОРМАТЕ FLASH

Г.К. Низамдинова

Казахский национальный аграрный университет Алматы, Казахстан, Nizamdin13@gmail.com

В 2014–2015 гг. проводили мониторинг с целью уточнения видового состава бактериальных болезней томата на юго-востоке Республики Казахстан. В результате обследований установили, что среди наиболее распространённых болезней на томате встречался и бактериальный рак томата, распространение которого по хозяйствам от 13 до 48%. Диагностика осуществлялась с использованием наборов производства ООО «АгроДиагностика» в формате FLASH. В результате апробации данного метода выяснилось, что использованные тест-системы являются эффективными, чувствительными и простыми в использовании, что является удобным в применении для массового анализа.

Ключевые слова: Рак томата, формат FLASH, фитопатогенные бактерии, флуоресцентная детекция.

В течение вегетации томаты поражаются многими вредоносными заболеваниями, среди которых особенно выделяются бактериальные болезни. Отсутствие сортов устойчивых к бактериальным болезням приводит в годы эпифитотий потери урожая до 30 и более процентов. Значительный экономический ущерб данной культуре наносят бактериозы, в том числе черная бактериальная пятнистость и рак томата [Ахатов и др., 2013].

В 2014–2015 гг. с целью уточнения видового состава болезней на томате проводилось маршрутные обследования крестьянских и фермерских хозяйств юго-востока Казахстана. В результате мониторинга, среди бактериальных болезней отмечалось развитие бактериального рака томата, возбудителем которого является *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* [Smith, 1910; Davis et al., 1984].

В настоящее время этот фитопатоген распространен более чем в 54 странах. Основными источниками данного бактериоза являются зараженные семена, рассада и рас-

тительные остатки [Grogan, Kendrick 1953; Strider, 1969; Chang et al., 1989; Gitaitis et al., 1991].

Бактериальный рак поражает генеративные и вегетативные органы, вызывая увядание листьев и побегов. Внутри стеблей увядающих растений при поперечном срезе видны побуревшие сосуды. Листья, начиная с нижних ярусов, скручиваются и увядают, часто наблюдается одностороннее засыхание. На плодах образуются мелкие светлые пятна с темным центром, поэтому ее иногда называют «птичьим глазом».

Идентификация проводилась в лаборатории молекулярной генетики и биохимии КазНИИ защиты и карантин растений. Отобранные образцы анализировались путем выделения возбудителя болезни в чистую культуру с дальнейшей идентификацией в формате FLASH. Выделение ДНК проводили на амплификаторе «Терцик» с помощью диагностических систем, разработанных на основе базового состава реакционной смеси и режима амплификации.

Расчет данных проходил автоматически по прилагаемой к флуориметру программе, после чего результаты анализа выводились в виде гистограмм и таблицы на монитор компьютера (рис.).

Образцы под номерами №111–118, выделенные из проб томата, показали положительную реакцию по отношению к *Clavibacter michiganensis* (рис.), где сигнал по Fam от-

мечался выше 3.13, при этом показатель HEX показывал выше (10.82).

Таким образом, методом Flash ПЦР подтверждено, что выделенные нами изоляты относятся к возбудителю болезни бактериального рака томата экспресс. Данный метод является эффективным, высокоспецифичным, чувствительным и быстрым для массовых анализов.

Clav.michiganensis



Рисунок. Результаты анализа образцов томата на наличие возбудителя *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, 2014–2015 гг.

Библиографический список (References)

Ахатов А. К. Мир томата глазами фитопатолога. Москва: Изд-во КМК. 2010. Научная библиотека диссертаций и авторефератов.
Карлов, А. Н. Диагностика зараженности семян томата возбудителем бактериального рака методом ПЦР. Известия ТСХА. 2007.

Рязанцев Д. Ю. Разработка систем идентификации фитопатогенов различных таксономических групп методом Flash-ПЦР. Москва-2009. Автореферат.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 119–120

DETECTION AND IDENTIFICATION OF TOMATO BACTERIAL CANCER BY FLASH-PCR

G.K. Nizamdinova

Kazakh National Agrarian University, Nizamdin13@gmail.com

Survey on bacterial diseases of tomatoes was performed in 2014–2015 in South-Eastern Kazakhstan. Tomato bacterial cancer was among the most widespread diseases with prevalence rates of 13–48%. Detection was performed using kit by “Agrodiagnostika” for FLASH-PCR. This test system is effective, sensitive and simple in use, making it a reliable tool for large-scale screening.

УДК 632.937.21

БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ФИТОСАНИТАРНОЙ ОПТИМИЗАЦИИ АГРОЭКОСИСТЕМ

И.И. Новикова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, vizrspb@mail333.com

Разработана методология создания полифункциональных биопрепаратов на основе штаммов с высокой биологической активностью по ряду признаков (фунгицидной, бактерицидной, антивирусной, фиторегуляторной), технологичных и безопасных для теплокровных животных и человека. Разработанные подходы позволили создать ряд новых препаративных форм, оптимальных для использования в разных экологических условиях в системах биологической и интегрированной защиты сельскохозяйственных культур.

Ключевые слова: микробы-антагонисты, фитопатогенные грибы бактерии, биологическая эффективность.

В последнее десятилетие на основании углубленных исследований теоретически обоснована целесообразность использования микробов-антагонистов для снижения плотности популяций фитопатогенных микроорганизмов и фитосанитарной оптимизации агроэкосистем и разработана концепция создания и использования в системах защиты растений полифункциональных биопрепаратов

двух типов – профилактического и пролонгированного действия на основе живых культур микроорганизмов и биопрепаратов на основе комплексов их метаболитов для быстрого подавления развития возбудителей заболеваний. Разработана целостная методология создания полифункциональных биопрепаратов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем на основе штаммов с высокой ком-

плексной биологической активностью по ряду признаков (фунгицидной, бактерицидной, антивирусной, фиторегуляторной), технологичных и безопасных для теплокровных животных и человека [Новикова, 2013]. Создание эффективной технологии регуляции плотности популяций фитопатогенов, в первую очередь, основано на формировании набора штаммов-продуцентов биопрепаратов, обладающих следующими характеристиками:

1. Высокий адаптационный потенциал и экологическая пластичность, позволяющие не только выживать в меняющихся природных условиях в течение длительного времени, но и эффективно сдерживать нарастание плотности популяций фитопатогенов.

2. Полифункциональность, обусловленная синтезом разнообразных БАВ с разной целевой активностью, что является следствием длительного эволюционного процесса почвообитающих микроорганизмов в условиях жесткого естественного отбора в насыщенной среде обитания.

3. Оптимальные технологические характеристики, включающие способность утилизировать дешевые и доступные источники питания, выдерживать разные режимы концентрирования и сушки, длительно сохранять жизнеспособность и целевую активность в разных препаративных формах.

В результате многолетних исследований создана коллекция перспективных штаммов микробов-антагонистов разной таксономической принадлежности, а на основе некоторых штаммов разработан ряд новых биопрепаратов, включенных в «Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории РФ»: Алирин-Б, Гамаир, Витаплан, Алирин-С. Высокая биологическая эффективность разработанных биопрепаратов в значительной степени обусловлена разнообразием вторичных метаболитов разных химических классов, обладающих антибиотической активностью в отношении фитопатогенных грибов и бактерий.

Новое направление в создании микробиологических препаратов на основе микробов-антагонистов – комплексные препаративные формы, включающие несколько штаммов-продуцентов, синтезирующих различные по составу метаболитные комплексы, что существенно расширяет спектр их действия. К числу таких микробиологических средств защиты растений от болезней относится Витаплан, СП, содержащий клетки штаммов *Bacillus subtilis* ВКМ В-2604D и *B. subtilis* ВКМ В-2605D. Штамм *B. subtilis* ВКМ В-2604D синтезирует антибиотики различного строения (полипептидный антибиотик из группы бактериоцинов и полиеновый антибиотик), а штамм *B. subtilis* ВКМ В-2605D образует полипептид, близкий к бациллину, и гексаеновые антибиотики, один из которых отнесен к подгруппе медиоцидина.

Витаплан, СП испытывали на пшенице яровой, озимой, ячмене яровом, озимом, ржи озимой, картофеле, свекле сахарной и столовой, капусте, луке, винограде, моркови и яблоне против комплексов болезней. На пшенице яровой и озимой эффективность препарата в отношении фузариозно-церкоспореллезной корневой гнили, септориоза листьев составляла 51.7–80.0%, мучнистой росы – 51.7–62.2%. На озимом и яровом ячмене эффективность биопрепарата против корневых гнилей достигала 63.8–80.0%, против сетчатой пятнистости – 62.6–63.7%. На картофеле препарат был эффективен

против фитофтороза, альтернариоза и ризоктониоза стеблей: эффективность биопрепарата и химического стандарта Максима, КС была сопоставимой. Эффективность Витаплана, СП против комплекса болезней достигала 60–80%, а максимальная прибавка урожая – 42–45%. На белокочанной капусте биологическая эффективность Витаплана, СП в отношении черной ножки и слизистого бактериоза составляла 58.0–68.2%. Увеличение урожайности при применении биопрепарата составила 15.7–34.2%. На сахарной свекле предпосевная обработка семян существенно снизила распространенность и развитие корнеда: эффективность составила 57.6–82.3%. Опрыскивание вегетирующих растений Витапланом существенно снизило пораженность церкоспорозом, эффективность в отношении развития болезни составила 64.2–74.7%. Высокую эффективность показал биопрепарат в отношении пероноспороза и фузариозной гнили лука, альтернариоза моркови, антракноза, трахеомикозного увядания и корневых гнилей арбуза, пероноспороза, корневых гнилей и трахеомикозного увядания дыни, милдью и оидиума винограда, парши, монилиоза и мучнистой росы яблони.

Основа препарата нового биопрепарата Стергнифаг, СП, разработанного специалистами ГНУ ВИЗР совместно с ЗАО «Агробиотехнология» – отселектированный штамм гриба рода *Trichoderma* (Триходерма) из Государственной коллекции микроорганизмов, патогенных для растений и их вредителей ФГБНУ ВИЗР. Штамм-продуцент способен разлагать высокополимерные компоненты растительных остатков, обладает высокой фунгицидной активностью и выраженным ростостимулирующим эффектом. Отличительные особенности препарата – высокая биологическая эффективность, безопасность для растений, животных и человека, устойчивость к перепадам температур и химическому загрязнению почвы. Испытания нового биопрепарата в разных природно-климатических зонах показали, что он эффективен для обработки стерни и соломы злаковых, растительных остатков сои, сорго, кукурузы и подсолнечника. Испытания препарата показали, что его применение позволяет ускорить разложение растительных остатков в почве, подавить фитопатогенную инфекцию, передающиеся через растительные остатки и почву, повысить плодородие почвы за счёт обогащения её питательными веществами и развития полезной микрофлоры (азотфиксирующие микроорганизмы и микроорганизмы, участвующие в минерализации органического вещества), увеличить урожайность сельскохозяйственных культур на 10–30%.

Основные задачи в области создания новых биопрепаратов на основе антагонистов:

– Расширение числа видов и штаммов, перспективных для создания новых биопрепаратов на основе изучения биоразнообразия микробных сообществ;

– Создание новых препаративных форм, в том числе, на основе ассоциаций микроорганизмов, оптимальных для использования в разных экологических условиях;

– Разработка систем биологической и интегрированной защиты сельскохозяйственных культур на основе использования полифункциональных биопрепаратов разного целевого назначения с учетом фитосанитарной ситуации и состава фитопатогенных комплексов.

Библиографический список (References)

- Новикова И.И. Биологическое разнообразие микроорганизмов – основа для создания новых полифункциональных биопрепаратов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Материалы 3-го Всероссийского съезда по защите растений, СПб, 2013. Т.2. С.372–378
- Novikova I.I. Biological diversity of microorganisms as a basis for development of new multifunctional biological products for phytosanitary optimization of agroecosystems. Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 120–122

BIOLOGICAL DIVERSITY OF MICROORGANISMS AS A BASIS FOR DEVELOPMENT OF NEW MULTIFUNCTIONAL BIOLOGICAL PRODUCTS FOR PHYTOSANITARY OPTIMIZATION OF AGROECOSYSTEMS

I.I. Novikova

All-Russian Institute of Plant Protection, vizrsps@mail333.com

The methodology of development of multifunctional biological products based upon usage of strains with high biological activity of broad range (antifungal, antibacterial, antiviral and phyto regulatory), technology-compatible and safe for warm-blooded animals and human is provided. These approaches allowed developing a number of new preparative forms, optimal for use under different ecological conditions in the biological and integrated crop protection systems.

УДК 579.64

ПОТЕНЦИАЛ БАКТЕРИЙ РОДОВ *HALOMONAS* И *PSEUDOMONAS* В ДЕГРАДАЦИИ СИСТЕМНОГО ГЕРБИЦИДА 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ

Л.М. Нурушева, А.М. Васильева, Е.А. Гильванова

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, gelena@anrb.ru

Twelve haloalkaliphilic bacteria of family *Halomonadaceae* and *Pseudomonadaceae* from the collection of the Ufa Institute of Biology were tested for the ability to utilize the herbicide 2,4-D as a sole carbon source on M9 minimal agar medium. For the two most active strains I6 and И6с cultivation conducted in batch culture in minimal medium with phenoxyacetic acid at a concentration of 100 mg /l. It was studied the dynamic of growth, revealed a different pattern of cultural growth of I6 and И6с in the model system. It shows that both strains actively accumulates biomass at the disposing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid as a power source. Similarity I6 to the *Halomonas desiderata* and И6с to *Pseudomonas stutzeri* was confirmed by analysis of gene 16S rRNA. For representatives *Halomonas* and *Pseudomonas stutzeri* has not been previously established the possibility of assimilation 2,4-D. The studied strains-destructors can be used in biotechnology for the bioremediation of contaminated and saline soils.

Ключевые слова: 2,4 Д, ксенобиотики, гербициды, *Halomonas*, *Pseudomonas*.

Открытие ауксина и его синтетических аналогов (их известно в настоящее время более ста) было использовано в растениеводстве в двух направлениях: для регулирования и развития растений и избирательного уничтожения сорной растительности. Применительно к 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) основным оказалось второе направление. В последние годы вызывают тревогу экологические проблемы, создаваемые производством и применением 2,4-Д. Это, прежде всего образование диоксинов при получении феноксиуксусной кислоты и загрязнение окружающей среды и пищевых продуктов самим 2,4-Д и продуктами ее превращений [Вајај et al., 2008]. Известно, что бактерии играют основную роль в разложении (хлор) ароматических углеводов в природе и, таким образом, становятся все более перспективными объектами для создания биотехнологий восстановления природной среды. Микробные клетки способны осуществлять ассимиляцию разнообразных химических субстанций, в ходе которых они выполняют процессы конверсии молекул ксенобиотиков до экологически безопасных продуктов, тем самым способствуют биоремедиации почв [Ka et al., 1994, Sorensen et al, 2006. Kumar et al., 2016]. Именно поэтому в настоящее время применение микроорганизмов рассматривается как основа наиболее выгодных способов поддержания качества окружающей среды.

Объектами исследований служили γ -протеобактерии из коллекции микроорганизмов Уфимского Института биологии. Большую часть культур (9 штаммов) составили галоалкалофильные бактерии семейства *Halomonadaceae*, два изолята бензоатустойчивых бактерий и штамм И6с, выделенный при скрининге продуцентов циклодекстрин-глюканотрансферазы. Все штаммы таксономически охарактеризованы по результатам анализа морфологических, физиолого-биохимических признаков и отнесены предварительно к грамтрицательным бактериям семейств *Halomonadaceae* и *Pseudomonadaceae*. В качестве модельных штаммов были отобраны культуры И6с и И6, продемонстрировавшие хороший рост на минимальной агаризованной среде М9 [Маниатис и др., 1984] с небольшими изменениями, содержащей 2,4-Д в качестве единственного источника углерода.

На примере наиболее активных в отношении к 2,4-Д штаммов было проведено культивирование в периодической культуре на минимальной среде с феноксиуксусной кислотой в концентрации 100 мг/л. Оптическую плотность бактериальной суспензии измеряли методом нефелометрии при длине волны 590 нм. Профили роста штаммов И6с и И6 в периодической культуре при 28 °С и 160 об/мин в течении 7 суток представлены на рисунке. Культивирование обоих штаммов проводили в оптимальных для роста каждого условиях (рН, концентрация NaCl).

Исследование динамики накопления биомассы в периодической культуре выявило разный характер роста тестируемых штаммов. Отсутствие лаг-фазы было существенным отличием в профиле роста культуры Ибс от роста галомонадного штамма И6. При культивировании штамма И6 лаг-фаза длилась сутки, после чего следовала экспоненциальная фаза роста с максимальным значением $OD_{590}=1.68$. Через 7 суток, после стационарной фазы роста для обоих вариантов наблюдали начало падения значений OD_{590} , что соответствовало периоду отмирания клеток.

Таксономический статус штаммов-деструкторов был уточнен с использованием метода сиквенса-анализа гена 16S рРНК, который показал, что для галомонадного штамма И6 филогенетически близким оказался *Halomonas desiderata* с уровнем сходства гена 98.95%. Видовая принадлежность штамма Ибс к *Pseudomonas stutzeri* подтверждена 100% гомологией гена. Представители рода *Pseudomonas* – наиболее часто упоминаемые биологические агенты трансформации различных (хлор)ароматических соединений, но *Pseudomonas stutzeri*, как впрочем, и

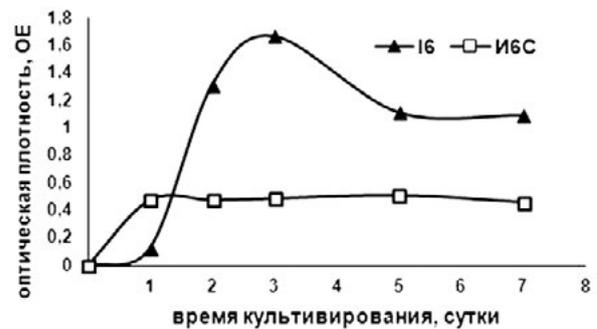


Рисунок. Зависимость значений оптической плотности OD_{590} биомассы деструкторов И6 и Ибс от времени культивирования в условиях использования 2,4-Д в качестве единственного источника углерода

бактерии рода *Halomonas* в качестве деструкторов 2,4-Д заявлены впервые. Изученные бактерии представляют несомненный интерес в плане утилизации системного гербицида 2,4-Д, особенно в условиях повышенной засоленности почв.

Библиографический список (References)

- Bajaj, M.; Gallert, C.; Winter, J. Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by an aerobic fixed bed reactor // *Bioresour. Technol.*, 2008. V. 99, p.8376–8381
- Ka, J. O., W. E. Holben, J. M. Tiedje. Genetic and phenotypic diversity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-degrading bacteria isolated from 2,4-D-treated field soils // *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994. V. 60 p. 1106–1115
- Sorensen, S. R., A. Schultz, O. S. Jacobsen, J. Aamand. Sorption, desorption and mineralization of the herbicides glyphosate and MCPA in samples from Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 122–123
- two Danish soil and subsurface profiles // *Environ. Pollut.*, 2006. V. 141 p. 184–194
- Kumar A., Trefault N., Olaniran A.O. Microbial degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: Insight into the enzymes and catabolic genes involved, their regulation and biotechnological implications // *Critical Reviews in Microbiology*, 2016, V.42 N 2 p. 194–208
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир, 1984. 480 с.

DEGRADATION OF SYSTEMIC HERBICIDE 2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID BY BACTERIA OF THE GENUS *HALOMONAS* AND *PSEUDOMONAS*

L.M. Nurusheva, A.M. Vasileva, E.A. Gilvanova

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, gelena@anrb.ru

Twelve haloalkaliphilic bacteria of family *Halomonadaceae* and *Pseudomonadaceae* from the collection of the Ufa Institute of Biology were tested for the ability to utilize the herbicide 2,4-D as a sole carbon source on M9 minimal agar medium. For the two most active strains И6 and Ибс cultivation conducted in batch culture in minimal medium with phenoxyacetic acid at a concentration of 100 mg/l. It was studied the dynamic of growth, revealed a different pattern of cultural growth of И6 and Ибс in the model system. It shows that both strains actively accumulates biomass at the disposing 2,4-dichlorophenoxyacetic acid as a power source. Similarity И6 to the *Halomonas desiderata* and Ибс to *Pseudomonas stutzeri* was confirmed by analysis of gene 16S rRNA. For representatives *Halomonas* and *Pseudomonas stutzeri* has not been previously established the possibility of assimilation 2,4-D. The studied strains-destructors can be used in biotechnology for the bioremediation of contaminated and saline soils.

УДК 575.22

ПРЕИМУЩЕСТВА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНСТРУМЕНТОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ

А.М. Ныгыметова

Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан, aimeri_enu@mail.ru

Целью данной работы является рассмотрение роли современных технологии применяемых в молекулярной биологии и генетике в определении точной видовой принадлежности насекомых-вредителей и насекомых-энтомофагов сельскохозяйственных культур. В 2015 году в Национальном научно-исследовательском агрономическом институте (The Institut National de la Recherche Agronomique, INRA, София-Антиполис, Франция) был проведён молекулярной анализ образцов полезных насекомых привезённых с Казахстана. Результаты анализа позволили установить точную видовую

принадлежность этих насекомых и устранить ошибки в видовой идентификации, проведённых ранее исследованиях традиционным методом в энтомологии.

Ключевые слова: энтомофаги, насекомые вредители, видовая идентификация, морфологический анализ, молекулярный анализ.

Использование инструментов молекулярной и популяционной биологии, а также генетики для идентификации вредных и полезных организмов для интегрированной защиты растений становится все актуальнее в современном научном обществе. В основном это связано с необходимостью усовершенствования методов идентификации, так как неправильное определение вида вредителя ведёт к уменьшению эффективности биологических методов защиты растений, вследствие чего увеличивается пестицидная нагрузка [Beltra et al., 2012]. Благодаря быстрому темпу развития молекулярной биологии, метод ПЦР (полимеразная цепная реакция) становится максимально доступным широкому кругу пользователей научного сообщества и сельскохозяйственной индустрии. Этот метод лабораторной диагностики позволяет проводить разные исследования на молекулярно-генетическом уровне, включая систематику насекомых, что имеет важное теоретическое и практическое значение.

Образцы полезных насекомых (*Trichogramma* sp., *Pachyneuron* sp., *Encarsia* sp., *Macrolophus* sp.), содержащихся в лаборатории для научных целей отдела биометода в Казахском научно-исследовательском институте защиты и карантина растений, были привезены в INRA для уточнения видовой принадлежности энтомофагов. Результаты морфологического анализа этих насекомых вызывали со-

мнение, в связи с чем они были отобраны для молекулярно-генетического анализа. С этой целью была проведена экстракция геномной ДНК насекомых двумя альтернативными методами с последующей ПЦР-амплификацией с различными наборами праймеров к участкам генов ядерной рибосомальной РНК (C-28Slong-F+C-28Slong-R) и митохондриальной цитохромоксидазы (LCO+HCO; Pco1F+LepR1).

ПЦР-продукты были разделены электрофоретически в агарозном геле, очищены и отправлены на секвенирование в компанию Beckman Coulter Genomics. Полученные нуклеотидные последовательности редактировали в программе BioEdit с последующим BLAST-анализом на сервере Генбанка (blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?).

По результатам молекулярного анализа образцов была уточнена видовая принадлежность слепняков (*Macrolophus pygmaeus*, Rambur и *Nesidiocoris tenuis*, Reuter); трихограммы (*Trichogramma parkeri*, Nagarkatti), наездника (*Pachyneuron aphidis*, Bouehr) и осы-паразита белокрылок (*Encarsia formosa*, Gahan).

Подводя итоги данной работы, следует отметить, что ПЦР анализ показал высокую эффективность в уточнении видовой идентификации насекомых и должен быть использован для дополнения и уточнения результатов морфологического анализа.

Библиографический список (References)

Beltra A, Soto A, T. Malausa. Molecular and morphological characterisation of *Pseudococcidae* surveyed on crops and ornamental plants in Spain. Bulletin of Entomological Research. 2011. 1–8.

Villard P and T. Malausa. SP-Designer: a user-friendly program for designing species-specific primer pairs from DNA sequence alignment. Molecular Ecology Resources. 2013. 13. 755–758.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 123–124

ADVANTAGES OF USING MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS TOOLS IN PLANT PROTECTION

A.M. Nygymetova

Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine, aimeri_enu@mail.ru

The aim of this study is to highlight the importance of contemporary technologies in molecular biology and genetics for insect species identification of pests and beneficial arthropods that have significant economic importance in agriculture. In 2015, samples of beneficial insects collected in Almaty province, Kazakhstan and maintained in the laboratory culture of the Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine, were analyzed in the French National Research Institute by using PCR method. Results of analysis helped to precisely identify the species name of samples and correct the mistakes in previous morphological analysis.

УДК 574.472

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЕ МЕТОДЫ ЗОНИРОВАНИЯ ПОСЕВОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ПО СТЕПЕНИ ФИТОСАНИТАРНОГО РИСКА ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУРЫ

Е.И. Овсянникова, И.Я. Гричанов, М.И. Саулич, В.И. Якуткин

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, Grichanov@mail.ru

Созданы комплексные карты потенциально низкого, среднего и высокого фитосанитарного риска для выращивания подсолнечника двумя различными методами автоматизированных технологий с использованием программных средств AxioVision, с одной стороны и Idrisi 32 и Mapinfo Professional, с другой стороны. В качестве исходных были использованы карты зон вредоносности, выполненные в едином формате в рамках проекта «Агроатлас», для 10 видов специализированных болезней, а также возбудители подсолнечника, в последние десятилетия имевших наибольшее

экономическое значение для культуры на территории стран бывшего Советского Союза. Результаты сравнения двух методов оказались сходными, что позволяет использовать оба метода в дальнейших научных исследованиях в плане детализации карт для отдельных регионов и построения крупномасштабных карт, при разработке операционных карт в режиме ежегодной и подекадной обработки фитосанитарной информации.

Ключевые слова: подсолнечник, фитосанитарное районирование, зонирование, растение-паразит, болезнь растений.

Средствами программы AxioVision, встроенной в программное обеспечение стереомикроскопа «Zeiss Discovery V12», которая имеет функцию склейки (Z-Stack) нескольких слоев в одном результирующем изображении [Гричанов, Овсянникова, 2013, 2015] и программ Idrisi 32 и Mapinfo Professional [Якуткин, Саулич, 2016] выполнено комплексное зонирование площади производственного выращивания подсолнечника на территории Российской Федерации и сопредельных государств в отношении вредоносности специализированных болезней и заразики подсолнечника. За основу были взяты карты широко известного Агоатласа, созданного рядом специалистов в средствах ГИС-технологий (Agroecological Atlas ..., 2008), характеризующие вредоносность конкретных видов болезней подсолнечника.

В пределах зоны выращивания подсолнечника ряд болезней подсолнечника распространены повсеместно от западных границ Молдавии и Украины до восточных границ Российской Федерации (Якуткин, 2008). Это относится к таким болезням подсолнечника как альтернариоз *Alternaria* spp., серая гниль *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel. (= *Botrytis cinerea* Pers.), корневая гниль *Fusarium* spp, *Rhizoctonia* spp., фомоз *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, угольная (пепельная) гниль подсолнечника *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid., ложная мучнистая роса *Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. et de Toni., сухая гниль корзинок *Rhizopus stolonifer* var. *stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., белая гниль *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary., септориозная пятнистость листьев (септориоз) *Septoria helianthi* Ell. & Kell., вертициллезное увядание *Verticillium dahliae* Kleb., а также к заразики подсолнечника *Orobanche cumana* Wallr.

В результате идентифицированы зоны слабой, средней и сильной комплексной (суммарной) вредоносности 10 болезней и заразики, что соответствует грациям риска возможных потерь урожая в ареалах культуры на территории Российской Федерации и соседних стран бывшего Советского Союза. Зона сильной суммарной вредоносности и, следовательно, высокой степени риска выращивания подсолнечника охватывает площади производственного выращивания подсолнечника на территории Молдавии, Украины, Северокавказского и Южного федеральных округов России.

Демонстрационная ГИС «Суммарная вредоносность» позволяет узнавать значения этого основного показателя для оценки риска выращивания подсолнечника и набор болезней в любой точке выделенных зон.

Результаты сравнения двух методов оказались сходными, что позволяет использовать оба метода в дальнейших научных исследованиях в плане детализации карт для отдельных регионов и построения крупномасштабных карт, при разработке операционных карт в режиме ежегодной и подекадной обработки фитосанитарной информации. Оба подхода учитывают количество вредных видов и степень их вредоносности в каждой точке карты.

Идентификация зональных граций риска возможных потерь урожая позволяет дифференцировать защитные мероприятия с учётом экономических показателей на посевах подсолнечника [Якуткин, 2008]. Полученные карты могут быть рекомендованы для построения территориальных прогнозов и организации защитных мероприятий против комплекса вредных организмов.

Библиографический список (References)

- Гричанов И.Я., Овсянникова Е.И. Опыт фитосанитарного районирования России и соседних стран по комплексу вредителей плодовых культур с использованием программы AxioVision. // *Плодоводство и виноградарство Юга России* [Электронный ресурс]. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2013. N 22(4). С. 1–15. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/13/04/08.pdf>.
- Гричанов И.Я., Овсянникова Е.И. Зоны фитосанитарного риска для выращивания картофеля на территории России и соседних стран. // *Агро XXI*, 2015. N 1–3. С. 16–18. – Режим доступа: <http://www.agroxxi.ru/zhurnal-agroxxi/nomera.html?journal=233>.

- Якуткин В.И. Защита подсолнечника от болезней в Центральной Чернозёмной Зоне России. СПб: РАСХН, ВИЗР, 2008. 39 с.
- Якуткин В.И., Саулич М.И. Фитосанитарные риски болезней и заразики в ареалах подсолнечника России, Украины, Молдавии и Казахстана. // *Вестник защиты растений*, 2016 (в печати).
- Agroecological atlas of Russia and neighboring countries: economic plants and their diseases, pests and weeds. 2008. URL: <http://www.agroatlas.ru> (accessed: 04/03/2016).

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 124–125

AUTOMATED METHODS OF SUNFLOWER CROP ZONATION BY DEGREE OF PHYTOSANITARY RISK OF CULTURE CULTIVATION

E.I. Ovsyannikova, I.Ya. Grichanov, M.I. Saulich, V.I. Yakutkin

All-Russian Institute of Plant Protection, Grichanov@mail.ru

Complex maps of potentially low, average and high phytosanitary risk for sunflower cultivation are created with use of two different methods of the automated technologies, i.e. with the use of AxioVision software, on the one hand, and Idrisi 32 and Mapinfo Professional softwares, on the other hand. Initial maps of harmfulness zones executed in a uniform format were selected from the project «Agroatlas», which were compiled for 10 species of specialized diseases and Sunflower Broomrape that had the greatest economic value on the territory of the former Soviet Union during the last decades. Results of comparison of the two methods were similar that allows using both methods in further scientific researches in respect of map specification for certain regions and creation of large-scale maps, developing operational maps in the mode of regular treatment of phytosanitary information.

НОВАЯ ПАРАДИГМА РАЗВИТИЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ И ЕЕ КОНЦЕПТУАЛЬНОЕ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЕ РЕШЕНИЕ

В.А. Павлюшин, Н.А. Вилкова, Г.И. Сухорученко, С.Л. Тютюрев, Л.И. Нефедова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, vizrspb@mail333.com

В работе обоснована новая концепция оптимизации фитосанитарного состояния агробиоценозов, предусматривающая биоценотический подход к построению защитных мероприятий, направленных на управление структурно-функциональной организацией агроэкосистем.

Ключевые слова: экосистемы, агробиоценозы, структурно-функциональная организация агроэкосистем, антропогенные факторы, сообщества биотрофов, фитосанитарная оптимизация агроэкосистем, новая парадигма, концепция.

Накопившиеся к настоящему времени сведения о динамических процессах, протекающих в экосистемах различных типов, в том числе и агробиоценозах, свидетельствуют о глубокой трансформации их структурно-функциональной организации, происходящей под влиянием интенсификации антропогенного воздействия. В агробиоценозах отмечено повышение численности и вредоносности ряда видов членистоногих фитофагов, фитопатогенов и сорных растений, учащение случаев их массовых размножений, расширение видовых ареалов и ареалов вредоносности, что приводит к резкому ухудшению фитосанитарного состояния посевов и посадок сельскохозяйственных культур на фоне общего обеднения биоразнообразия биологических сообществ.

Фитосанитарное и экологическое неблагополучие агробиоценозов делает защиту растений одним из важнейших рычагов сохранения урожая сельскохозяйственных растений, улучшения качества получаемой продукции, снижения ее себестоимости и оптимизации экологической обстановки. Фитосанитарная дестабилизация агроэкосистем, наблюдаемая в ряде регионов РФ, предъявляет особые требования к выбору средств и технологий как ограничения численности и вредоносности наиболее опасных видов биотрофов, так и путей предотвращения отрицательных экологических последствий проводимых против них защитных мероприятий.

Решение сложнейших стратегических задач оптимизации фитосанитарного состояния агробиоценозов в условиях их трансформации требует дальнейшей разработки как теоретических основ науки по защите растений, так и поиска и обоснования новых методологических и методических подходов при реализации защитных мероприятий. Необходимость пересмотра основных положений как теоретической, так и практической защиты растений диктуется кардинальными преобразованиями, происходящими в настоящее время, как в биологических науках, так и в сельскохозяйственном производстве, в частности в изменениях в землепользовании и переходом на новые технологии возделывания сельскохозяйственных культур.

Защита растений представляет собой заключительное звено технологий возделывания сельскохозяйственных культур и по существу определяет эффективность других звеньев, входящих в состав технологических регламентов возделываемых культур. Основу современной практической защиты растений, как одной из важнейших отраслей земледелия, составляет концепция фитосанитарной оптимизации агроэкосистем как совокупности сельскохозяйственных угодий и элементов внутривозделываемого

устройства. Концепция сформировалась как результат последовательного развития теоретических и практических разработок в области защиты растений, важнейшим этапом технологической реализации которой являлась «Система интегрированной защиты растений». В этой системе в соответствии с тенденциями развития земледелия и растениеводства предусматривается гармоничное сочетание всех имеющихся в арсенале защиты растений методов и средств, направленных на долговременное сдерживание численности вредных видов биотрофов ниже экономического порога вредоносности (ЭПВ), поскольку ни один из названных отдельно взятых элементов не позволяет обеспечивать оптимальное фитосанитарное состояние агроэкосистем. Только технологическая реализация всех разработок в области практической защиты растений позволяет обеспечить мощный совокупный эффект от применения фитосанитарных мероприятий, начальным этапом которой следует считать фитосанитарное проектирование агроэкосистем. В то же время разработанная система, хотя и базируется на преимущественном использовании нехимических средств защиты растений, но фактически нацелена на получение высокого защитного эффекта без всесторонней оценки экологического риска применяемых средств.

Рассматривая защиту растений как единое целое двух самостоятельных составляющих сложной научной мультидисциплины и практической проблемы оптимизации фитосанитарного состояния агробиоценозов, в ВИЗР разработана новая парадигма дальнейшего развития, как фундаментальных основ науки, так и стратегии ее практической реализации. Решение этой крупной стратегической задачи стало возможным лишь на основе системного подхода к сравнительному анализу становления и эволюции экосистем различных типов, в том числе агроэкосистем, специфики их функционирования и особенностей взаимодействий, образующих эту систему сообществ биотрофов.

Основополагающей позицией новой парадигмы и ее концептуального выражения послужило представление об агробиоценозах как антропогенной монодоминантной системе, отличающейся от природных экосистем спецификой структурно-функциональной организации и своеобразием взаимодействий растений-эдификаторов и консументов первого и второго порядков. Агробиоценоз создается человеком в рамках сложных природных экосистем и целью его функционирования является получение максимальной продукции от возделываемых сельскохозяйственных растений.

На этой основе разработана новая концепция оптимизации фитосанитарного состояния агробиоценозов, предусматривающая биоценологический подход к построению защитных мероприятий, направленных на управление структурно-функциональной организацией агроэкосистем, в том числе процессов флуктуаций и сукцессий, то есть изменениями видового состава сообществ, усиления средоулучшающих и ресурсовозобновляющих функций агробиоценозов, агроэкосистем и агроландшафтов. Такой подход делает возможным управление не только динамикой численности вредных и полезных видов в агробиоценозах, но и их ответными реакциями на экзогенные воздействия. При этом основной мишенью построения систем управления функционированием агробиоценозов является триотроф: растение-продуцент – консументы первого порядка (фитофаги) – консументы второго порядка (энтомофаги).

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 126–127

NEW PARADIGM OF PLANT PROTECTION DEVELOPMENT AND CONCEPT OF ITS SCIENTIFIC AND PRACTICAL RESOLUTION

V.A. Pavlyushin, N.A. Vilkova, G.I. Sukhoruchenko, S.L. Tyuterev, L.I. Nefedova

All-Russian Institute of Plant Protection, vizrspb@mail333.com

New conception of optimization of phytosanitary condition of agricultural ecosystems is substantiated, implying biocenotic approach to the planning of plant protection measures, aimed at regulation of structural and functional organization of agricultural ecosystems.

УДК 577.29

РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ ПЦР ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ЖЕРТВЫ ПО СОДЕРЖИМОМУ КИШЕЧНИКА ХИЩНЫХ КЛОПОВ СЕМЕЙСТВА MIRIDAE (INSECTA: HETEROPTERA)

И.М. Пазюк, Ю.М. Малыш, Ю.С. Токарев

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, ipazyuk@gmail.com

Подходы молекулярной генетики находят самое широкое применение в разнообразных областях биологии. В частности, методы видовой идентификации, основанные на ПЦР, могут применяться в отношении образцов ДНК жертвы в содержимом кишечника хищника, что может быть использовано для прецизионного экспресс-анализа трофических предпочтений последнего. В рамках настоящей работы нами разработан набор олигонуклеотидных зондов, специфически амплифицирующих фрагменты мтДНК двух хищных клопов *Macrolophus pygmaeus* и *Nesidiocoris tenuis* и их потенциальных жертв – тепличной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* и персиковой тли *Myzus persicae*. Апробация ПЦР-зондов показала их пригодность для видовой идентификации жертвы в отношении проб ДНК, экстрагированных кишечников клопов, питавшихся тем или иным видом жертвы.

Ключевые слова: полифаги, *Macrolophus*, *Nesidiocoris*, *Trialeurodes*, *Myzus*, трофические предпочтения, мтДНК, цитохром оксидаза, цитохром b.

Клопы *Macrolophus pygmaeus* Rambur и *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Miridae) являются хищниками-полифагами [Wheeler, 2000]. В теплицах и на открытых полях овощных культур они питаются табачной и оранжерейной белокрылками, трипсами, тлями, минерами, паутиными клещами, яйцами чешуекрылых [Torreno, 1994; Urbaneja, et al., 2005; Пазюк, 2011]. Наряду с поеданием различных видов вредных насекомых и клещей, эти слепняки так же питаются растениями, т.е. имеют смешанный тип питания.

Ряд хищников, несмотря на широкий круг потенциальных жертв, демонстрирует предпочтения в питании

В то же время ориентация стратегии защиты растений на разработку методов и приемов биоценологического регулирования функционированием агроэкосистем выдвигает сложнейшие для их теоретической и практической реализации проблемы, поскольку касается управления весьма сложными биологическими системами, к которым относятся агроэкосистемы и агроландшафты. Это, в свою очередь, потребует определенного уровня научного обеспечения. Исходя из этого, к числу основных проблем теоретической и практической защиты растений следует отнести проблему разработки на новой основе мероприятий направленных на предотвращение или сдерживание возникновения стрессовых ситуаций в агроэкосистемах под влиянием человеческой деятельности, в том числе и в результате нерегламентированного применения средств защиты растений.

тем или иным видом. Например, *M. caliginosus* Wagner при возможности выбора предпочитал тлю *Myzus persicae* Sulz. паутиному клещу *Tetranychus urticae* Koch [Foglar et al., 1990; Moayeri et al., 2006], белокрылку *Trialeurodes vaporariorum* Westwood белокрылке *Bemisia tabaci* Gennadius [Bonato et al., 2006]. Хищные клопы-полифаги *Orius laevigatus* Fieber и *Orius majusculus* Reuter (Anthocoridae) в тесте при питании белокрылкой *B. tabaci* и трипсом *Franliniella occidentalis* Pergande в значительной степени предпочитали трипсов [Arno J. et al., 2008].

Пищевые предпочтения многих видов хищных клопов изучены крайне слабо, так как традиционно данные исследования сопряжены с целым рядом методических трудностей. С другой стороны, современные достижения молекулярной биологии позволяют проводить видовую идентификацию биологических образцов в самом разном состоянии, включая содержимое кишечника, открывают новые возможности в данном направлении [Schmidt et al., 2009; Ito et al., 2013].

В рамках настоящей работы нами разработан набор олигонуклеотидных зондов (праймеров) к фрагментам гена первой субъединицы цитохром оксидазы или цитохрома b мтДНК двух хищных клопов *M. pygmaeus* и *N. tenuis* и их потенциальных жертв – тепличной белокрылки *T. vaporariorum* и персиковой тли *M. persicae*. Каждая

из четырёх пар праймеров специфически амплифицирует фрагмент мтДНК одного из четырёх перечисленных видов насекомых, соответственно, все четыре фрагмента различаются по длине, а температура отжига праймеров находится в диапазоне от 61 до 63 °С что позволяет использовать данную систему в виде мультиплексной смеси (табл.), в которой зонд, амплифицирующий ДНК хищника, служит в качестве внутреннего контроля.

Апробация ПЦР-зондов показала их пригодность для видовой идентификации жертвы в отношении проб ДНК, экстрагированных кишечника клопов, питавшихся тем или иным видом жертвы, что позволяет рекомендовать данную систему для изучения предпочтений данных видов клопов по отношению к модельным жертвам – тле и белокрылке.

Таблица. Мультиплексные праймеры для видовой идентификации двух видов хищных клопов и их потенциальных жертв

Праймер	Локус	5'-3' последовательность	Tm, °C	Длина, н.о.	GC, %	Длина продукта, н.о.
Nest1F	COI	ATGAACAGTATACCCTCCTCTGTC	61.5	24	45	211
Nest1R		AAGAGTAAGGCAGTGATTCCTGTG	63	24	45	
Macp1F	COI	CACCCGACATAGCATTCCTC	61.3	21	52	288
Macp1R		CGTTCTGATGATACCTTGTGGTC	61.5	25	44	
Triv1F	cytB	GGGATTTTCTGTTGATAATGCAACTC	61.5	26	38	148
Triv1R		ATAAGATCTTGTCAACCCAGCAG	60.9	24	43	
Myzp1F	cytB	ATATAGAAATTTTGATAAAATTACATTCTCACC	61	36	25	169
Myzp1R		GTAGGTGTAACATTTGGGTTTGCTA	60.9	25	40	

Название праймеров соответствует виду насекомого: *Nesidiocoris tenuis* (Nest), *Macrolophus pygmaeus* (Macp), *Trialeurodes vaporariorum* (Triv), *Myzus persicae* (Myzp). COI – первая субъединица цитохром оксидазы, cytB – цитохром b, Tm – температура плавления праймеров, GC – процентное содержание гуанина и цитозина в составе нуклеотидной последовательности праймера

Библиографический список (References)

- Пазюк И.М. Перспективы использования клопов зоофитофагов из семейства Miridae (Heteroptera) в биологической защите растений // Информ. бюл. ВПРС МОББ, 2011. N 42. с. 154–158
- Arno J., Roig J., Riudavets J. Evaluation of *Orius majusculus* and *Orius laevigatus* as predators of *Bemisia tabaci* and estimation of their prey preference // Biological Control, 2008. N 44. p. 1–6
- Bonato O., Couton L., Fargues J. Feeding preference of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) on *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) // J. Econ. Entomol., 2006. Vol. 99. iss. 4. p. 1143–1151
- Foglar H., Malausa J.C., Wainberg E. The functional response and preference of *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) for two of its prey: *Myzus persicae* and *Tetranychus urticae* // Entomophaga, 1990. Vol. 35. p. 465–474
- Ito M., Watanabe M., Watanabe E., Miura K. Gut content analysis to study predatory efficacy of *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae) by molecular methods // Entomological Science, 2013. N 16. p. 145–150
- Moayeri H.R.S., Ashouri A., Brødsgaard H.F., Enkegaard A. Odour-mediated preference and prey preference of *Macrolophus caliginosus* between spider mites and green peach aphids // J. Appl. Entomol., 2006. Vol. 130. iss. 9–10. p. 504–508
- Torreno H. Predation behavior and efficiency of the bug *Cyrtopeltis tenuis* (Hemiptera: Miridae), against the cutworm, *Spodoptera litura* (F.). Philippine Entomol., 1994. N 9. p. 426–434
- Urbaneja, A., Tapia G., Stansly P. Influence of host plant and prey availability on developmental time and survivorship of *Nesidiocoris tenuis* (Het.: Miridae) // Biocontrol Science and Technology, 2005. Vol. 15. N 5. p. 513–518
- Wheeler A.G. Predacious Plant bugs (Miridae) // Heteroptera of economic importance. C. W. Schaefer, A. R. Panizzi. –CRC Press LLS, 2000. p. 667–668

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 127–128

DEVELOPMENT OF A PCR-BASED ASSAY FOR PREY SPECIES IDENTIFICATION IN GUT CONTENT OF PREDATORY BUGS OF THE FAMILY MIRIDAE (INSECTA: HETEROPTERA)

I.M. Pazyuk, Yu.M. Malysh, Yu.S. Tokarev

All-Russian Institute of Plant Protection, ipazyuk@gmail.com

Molecular genetics approaches are widely exploited in diverse fields of biology. In particular, PCR -based species identification methods may be applied to prey DNA samples in gut content of the predator to assay trophic preferences of the latter. Within the frames of the present work a set of oligonucleotide probes was developed which specifically amplified gene fragments of cytochrome oxidase subunit I of mtDNA of two predatory bugs *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* and their potential prey – glasshouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* and peach aphid *Myzus persicae*. Apronation of the probes showed their reliability for species identification for DNA samples extracted from guts of the bugs feeding on different prey species.

УДК 574.476

ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ *GALLERIA MELLONELLA* ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМ ГРИБОМ *LECANICILLIUM MUSCARIUM*

А.Л. Первушин¹, В.Ю. Крюков², Г.В. Митина¹, О.Г. Томилова²

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, lp901@mail.ru,

²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия, krukoff@mail.ru

Показано, что инфицирование неспецифического хозяина *G. mellonella* грибом *L. muscarium* естественным путем через кутикулу не происходит, но возможно интрагемоцеллюлярным методом. Отмечено увеличение количества гемоцитов в гемолимфе гусениц через 1–2 дня после инъекции по сравнению с контролем. Смертность личинок составила 100% на 4–5 сутки после заражения. *G. mellonella* может использоваться в качестве тест объекта для исследования иммунных реакций на заражение грибом *L. muscarium*.

Ключевые слова: сосущие вредители, *Lecanicillium muscarium*, большая пчелиная огневка *Galleria mellonella*.

Микозы сосущих насекомых (тлей, белокрылок, трипсов), вызываемые грибом *Lecanicillium muscarium*, детально изучены, однако, их защитные реакции практически не изучались из-за сложностей выделения гемоцитов. Известно, что этот вид ЭГ также выделяет различные токсины, участвующие в процессе патогенеза [Butt et al., 2009; Krasnoff et al., 2010]. В качестве модельного объекта нами была использована большая пчелиная огневка *Galleria mellonella*, которая широко применяется для изучения защитных реакций и иммунного ответа при заражении энтомопатогенными грибами [Butt et al., 2000].

В работе был использован высоковирулентный штамм гриба *L. muscarium* VI 72 с выраженной «эпизоотийной стратегией» в отношении к сосущим вредителям [Митина и др., 2014]. Заражение личинок 3-го возраста бластоспорами проводили двумя способами: перкутаным (путем погружения в суспензию конидий) и интрагемоцеллюлярным (спомощью инъекции бластоспор в ложноножку). В качестве контроля проводили погружение насекомых в физиологический раствор или его инъекцию. Учеты смертности проводили в течение 10 суток, начиная со 2-х суток после заражения.

При перкутанном инфицировании грибом *L. muscarium* VI 72 смертности личинок *G. mellonella* не наблюдалось. При заражении интрагемоцеллюлярным методом уже на первые сутки после инъекции были отмечены отдельные точечные пятна меланизации по всей поверхности тела гусениц. В гемолимфе зараженных гусениц на 2–3 сутки было отмечено повышение общего числа гемоцитов по сравнению с контролем (рис.). В последующие сутки отмечали существенное снижение уровня гемоцитов, что

свидетельствует о развитии патогенного процесса, вызванного *L. muscarium* и подавлении клеточного иммунитета. Смертность (100%) опытных личинок наступала на 4–5 сутки. В контроле наблюдали повышение уровня гемоцитов, возможно, вызванное введением физиологического раствора. После помещения зараженных гусениц во влажные камеры наблюдали рост гриба, начиная с места инъекции, по поверхности кутикулы.

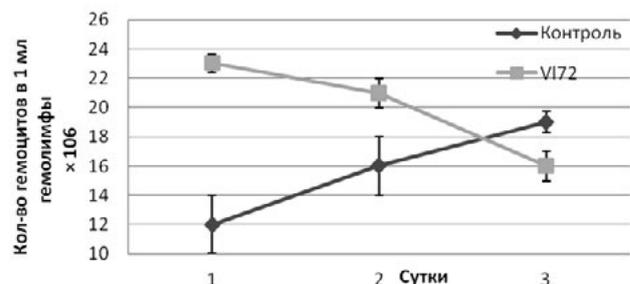


Рисунок. Динамика гемоцитов *G. mellonella* при заражении бластоспорами гриба *L. muscarium* штамм VI 72

Таким образом, инфицирование неспецифического хозяина *G. mellonella* грибом *L. muscarium* естественным путем через кутикулу не происходит. Большая пчелиная огневка может быть использована в качестве тест-объекта для изучения иммунного ответа при заражении *L. muscarium* интрагемоцеллюлярным методом. В дальнейшем необходимо изучить более детально иммунный ответ *G. mellonella* на заражение *L. muscarium* путем определения соотношения типов гемоцитов. Разработанный подход может быть использован для сравнительной оценки патогенных свойств штаммов грибов рода *Lecanicillium*.

Работа выполнена при поддержке гранта Мол_Нр.

Библиографический список (References)

Митина Г.В., Сендерский И.В., Первушин А.Л. Особенности развития микозов оранжевой белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* в зависимости от паразитизма штаммов *Lecanicillium muscarium* // Евразийский энтомолог. журнал. 2014. 13(6): 503

Butt T.M. and Goettel M.S. Bioassays of Entomogenous Fungi. In: Navon, A. and Ascher, K.R.S., Eds., Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes, CAB International, Wallingford, UK, 141–195. Butt T. M., El

Hadj N. B., Skrobek A., et al. 2009. Mass spectrometry as a tool for the selective profiling of destruxins; their first identification in *Lecanicillium longisporum* // Rapid Communications in Mass Spectrometry. 2000 Vol. 23, N 10. P. 1426–1434.

Krasnoff S.B., Keresztes I., Gillilan R.E., et al. Secondary metabolites from entomopathogenic Hypocrealean fungi // This journal is The Royal Society of Chemistry Nat. Prod. Rep., 2010, 27, 1241–1275

DEFENSIVE REACTIONS OF *GALLERIA MELLONELLA*, CAUSED BY THE INFECTION WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *LECANICILLIUM MUSCARIUM*

A.L. Pervushin¹, V.Y. Kryukov², G.V. Mitina¹, O.G. Tomilova²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, lp901@mail.ru,

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, krukoff@mail.ru

It has been shown that infection of nonspecific host *G. mellonella* with fungus *L. muscarium* does not occur naturally through the cuticle. However, after injection we observed an increasing hemocytes count in the hemolymph of caterpillars at the 1–2 days after infection and following decreasing in comparison with the control. Mortality of larvae was 100% at 4–5 day after injection. *G. mellonella* can be used as a test object for the study of the immune response to infection with fungus *L. muscarium*.

УДК 632.937

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОГО СРОКА ОБРАБОТКИ АЛЬБИТОМ, ТПС ВЕГЕТИРУЮЩИХ РАСТЕНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ СОРТА КАЛЫМ

А.Т. Подварко¹, Л.Н. Сковпень¹, А.К. Злотников²

¹Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия, vniibzr@mail.kuban.ru

²Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, Пуццо, Россия, artur@albit.ru

Представлены результаты полевого опыта по установлению оптимального срока обработки Альбитом, ТПС (40 мл/га) вегетирующих растений озимой пшеницы сорта Калым в зависимости от фазы развития. Препарат Альбит в системе с применением гербицида Прима, КС (опрыскивание растений в фазу кущения в баковой смеси) и последующая обработка Альбитом по фазам развития озимой пшеницы, позволяет повышать такие показатели, как длина стебля, колоса, масса зерна в колосе, масса 1000 зерен, содержание белка и клейковины в зерне, урожайность. Установлено, что эффект препарата достоверно зависит от срока второй обработки вегетирующих растений озимой пшеницы. Оптимальными являются фазы 35–40 и 60 (код ВВСН), что позволяет обеспечивать наибольшую величину сохраненной урожайности.

Ключевые слова: Регуляторы роста растений, антидотный эффект, пиренофороз, фазы развития, баковая смесь, опрыскивание растений, гербицид, фунгицид.

Одним из эффективных приемов, позволяющих повысить урожайность с.-х. культур за счет стимулирования роста и повышения устойчивости растений к абиотическим стрессам и действию возбудителей болезней является использование экологически безопасных регуляторов роста. Все более широкое применение находят биопрепараты, изготовленные на основе природных веществ. К таким препаратам можно отнести регулятор роста Альбит, ТПС (д.в. поли-бета-гидроколмазная кислота из почвенных бактерий *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aureofaciens*).

На зерновых культурах рекомендуется двукратное опрыскивание посевов Альбитом. Первая обработка проводится в стадии кущения совместно с гербицидами. Оптимальный срок второго опрыскивания по разным источникам различается [Алехин, Попов, 2004; Злотников и др., 2005]. В связи с этим, целью данной работы являлось установление оптимального срока обработки Альбитом вегетирующих растений озимой пшеницы в зависимости от фазы развития.

Исследования проводили в условиях 8-польного полевого севооборота ВНИИБЗР на озимой пшенице сорта Калым. В фазу кущения (код ВВСН 25) проводили опрыскивание вегетирующих растений баковой смесью – гербицид прима, СЭ (300 г/л 2.4D к-ты + 6.25 г/л флорасулама) – 600 мл/га + Альбит, ТПС (40 мл/га). Второе опрыскивание Альбитом в фазы развития: трубкование (код ВВСН 35), флаг-лист (код ВВСН 45), колошение-цветение (код ВВСН 60), налив, созревание зерна (код ВВСН 75). В фазе

(код ВВСН 60) посева обработаны фунгицидом Альто Супер, КЭ (200 г/л пропиконазола + 80 г/л ципроконазола) – 500 мл/га.

В фазу развития озимой пшеницы созревание (код ВВСН 75) по вариантам опыта были проведены измерения высоты стебля, длины колоса, определена масса зерен с одного колоса и масса 1000 семян. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наибольший ростстимулирующий эффект отмечен при опрыскивании растений озимой пшеницы Альбитом в фазы развития 35, 45 и 60 (код ВВСН). Высота стебля в сравнении с контролем увеличилась на 4.8–5.2%, длина колоса на 4.3–5.2%, масса зерна в колосе – на 5.7%, масса 1000 зерен – на 3.0% соответственно. При опрыскивании растений озимой пшеницы Альбитом в более позднюю фазу развития (налив зерна–созревание) (код ВВСН 75) отмечено снижение ростстимулирующей активности препарата в отношении структурных показателей роста. Ростстимулирующая активность Альбита в зависимости от фазы развития озимой пшеницы сохраняется и по величине урожайности и антидотной активности. Урожайность зерна озимой пшеницы в контроле составляла 73.0 ц/га. Опрыскивание растений Альбитом в зависимости от фазы развития статистически достоверно увеличило урожайность на 1.5–7.0 ц/га. Наибольшая прибавка урожайности 6.2–7.0 ц/га получена в вариантах опрыскивания растений озимой пшеницы Альбитом в фазы развития 35, 45 и 60 (код ВВСН). Антидотный эффект в этих вариантах составил 8.6–9.6% против

2% при однократной обработке в баковой смеси с гербицидами, т.е. вторая обработка увеличивала антидотный эффект более чем в четыре раза. Отмечено положительное иммунизирующее действие Альбита повышающее устойчивость растений озимой пшеницы к пиренофорозу.

В фазы развития 58 и 75 (код BBCH), отмечено наличие пиренофороза (возбудитель *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsli.). В контрольном варианте до обработки посевов фунгицидом Альто Супер, КЭ степень развития пиренофороза составила 16.0%. Обработка посевов фунгицидом Альто Супер, КЭ привела к снижению развития болезни до 8.2%. В вариантах с дополнительным приме-

нением Альбита, препарат достоверно повышал защитное действие химического фунгицида на 18.3%.

Содержание белка в зерне увеличивалось на 0.3-1.4%, клейковина на 0.3-1.6%, относительно контроля. На основании полученных результатов установлено, что оптимальными сроками второй обработки вегетирующих растений озимой пшеницы Альбитом являются фазы трубкование, флаг-лист и колошение-цветение, что позволяет получать наибольшую прибавку урожайности 6.2-7.0 ц/га к контролю (антидотный эффект к гербициду Прима – 8.5-9.6%).

Библиографический список (References)

Алехин В.Т., Попов Ю.В. Биологическая и хозяйственная эффективность биофунгицидов и регуляторов роста на зерновых культурах. // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем. 2004. с. 170-172.

Злотников А.К., Дерев А.И., Бегунов И.И., Злотников К.М. Альбит на озимой пшенице// Земледелие, №3, 2005. с. 31-32.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 130–131

DETERMINATION OF OPTIMAL TREATMENT PERIOD OF WINTER WHEAT VEGETATING PLANTS OF KALYM CULTIVAR WITH ALBIT AND TPS PREPARATIONS

A.T. Podvarko¹, L.N. Skovpen¹, A.K. Zlotnikov²

¹All-Russian Institute of Biological Plant Protection, vniibzr@mail.kuban.ru

²G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, artur@albit.ru

The results of field experiments to establish optimal treatment period of vegetating winter wheat plants of Kalym cultivar with Albit and TPS (40 ml / ha) depending on the development phase are presented. Albit preparation used in the system with Prima KS herbicide (spraying of plants in the tillering stage in tank mixture) and its subsequent treatment on different winter wheat phases can enhance such indicators as stem and ear length, grain weight per ear, 1000 grain weight, protein and gluten content and productivity. It was found that the effect of the preparation was significantly dependent on the term of the second treatment of winter wheat vegetating plants. Optimal phases (BBCH – 35–40 and 60) are booting, flag-leaf and earing-flowering, thereby providing the highest value of saved yield.

УДК 57.022

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНЫХ РЕЖИМОВ НА ТЕЧЕНИЕ ГРИБНЫХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ НАСЕКОМЫХ

О.В. Поленогова, В.Ю. Крюков, О.Н. Ярославцева, О.Г. Томилова, Е.В. Гризанова, Ю.Б. Аханаев, И.М. Дубовский, В.В. Глухов

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия, ovr0408@yandex.ru

Абиотические факторы среды могут в значительной степени повлиять на эффективность развития грибных и бактериальных инфекций насекомых. Инфекционные клетки *Beauveria bassiana* и *Bacillus thuringiensis* были использованы для заражения личинок *Leptinotarsa decemlineata*, которых содержали при низких или при высоких температурах, что соответствует оптимальным условиям для микозов и бактериозов, соответственно. Синергизм грибных и бактериальных инфекций был обнаружен в обоих случаях, оба патогена обнаружены в трупах насекомых. При низких температурах насекомые были более устойчивы к инфекциям по причине повышенной активности иммунной системы и детоксицирующих ферментов.

Ключевые слова: *Leptinotarsa decemlineata*, патогены, грибные инфекции, бактерии, *Bacillus thuringiensis*.

В естественных условиях на эффективность развития инфекционного процесса у насекомых, вызванного грибными и бактериальными агентами, могут в значительной степени влиять абиотические факторы среды. Так, бактерии *Yersinia entomophaga*, патогенные для ряда видов насекомых, при пероральном заражении *Galleria mellonella* оказались вирулентными при 25 °С и авирулентными при 37 °С [Hurst et al., 2015]. Эти эксперименты были проведены с участием лабораторных линий насекомых, содер-

жащихся при постоянных условиях. Однако неясно, как происходит развитие бактериальной инфекции в природной популяции насекомых, при моделировании условий максимально приближенных к естественным.

Нами было проведено совместное заражение личинок колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Say) конидиями гриба *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. и споро-кристаллической смесью бактерий *Bacillus thuringiensis*, при этом насекомые содержались в услови-

ях двух колеблющихся температурных режимах (I: день +32 °С, ночь +25 °С; II: день +25 °С, ночь +17 °С). Выбранные режимы соответствуют разным оптимумам для патогенов: грибной инфекции – низкие температуры, бактериальной – высокие. В свою очередь, личинки колорадского жука быстрее развиваются при высокотемпературном режиме, однако в этом случае возможно развитие кишечных бактериальных инфекций. В результате проведенных опытов был выявлен синергизм в смертности насекомых при смешанном заражении в условиях обоих температурных режимов. Смертность при микозе практически не отличалась на разных температурных режимах и на 13 сутки эксперимента достигала 90%. Однако, смертность при бактериальной инфекции к концу эксперимента во II-м температурном режиме не превышала 18%, тогда как, на более высоких температурах достигала 50%. Смешанная инфекция приводила к 100%-й смертности в обоих режимах, коэффициент синергизма при низкотемпературном режиме оказался выше. Общее число гемоцитов снижалось при бактериозе и смешанной инфекции при обоих температурных режимах. Также были зарегистрированы изменения в активности ферментов детоксицирующей системы насекомых. Было проведено измерение активности ряда ферментов, участвующих в защитных реакциях насекомых, таких как фенолоксидаза (ФО), неспецифические эстеразы (ЭСТ), глутатион-S-трансфераза (ГСТ), в различных органах и тканях (гемолимфа, кутикула, кишечник, жировое тело). Было показано, что изменение данных показателей наиболее выражено при более низких температурах. Так, было зарегистрировано снижение активности ФО (в кутикуле и лимфе) у нативных насекомых при содержании приворотом температурном режиме. Кроме того, при низкотемпературном режиме в жировом теле личинок было зарегистрировано повышение активности ФО, пода-

влялась активность ГСТ и ЭСТ, как при бактериозах, так и при смешанном заражении. В кишечнике наоборот, была тенденция к активации данных показателей. Полученные нами данные согласуются с рядом других работ. Так, при инфицировании *Galleria mellonella* бактериями *Bacillus thuringiensis* и коротком воздействии 12 °С температурой было показано, что индукция иммунного ответа у насекомых выше, чем у личинок, постоянно содержащихся при 28 °С [Wojda et al., 2015].

В наших экспериментах также проводилось исследование конкурентных взаимоотношений между грибом и бактерией методом выделения энтомопатогенов из трупов насекомых при разных типах заражений. Было установлено, что оба патогена сосуществуют в погибших насекомых. При смешанном заражении из погибших насекомых выделяются как грибы, так и бактерии, однако при более низких температурах в большем количестве случаев выделяется энтомопатогенный грибок, а при более высоких температурах – бактерии. Данный результат подтверждает более интенсивное развитие бактерий при высоких температурах.

Таким образом, низкие температуры позволяют насекомым активировать ряд защитных систем и уйти от бактериальной инфекции. Однако при низкотемпературном режиме также происходит подавление бактериями клеточного иммунитета и детоксицирующих ферментов в жировом теле. Это, в свою очередь, приводит к повышению чувствительности к грибу и эффекту синергизма. В целом сочетание *B.bassiana* + *B.thuringiensis* эффективно при разных температурных условиях, поэтому может быть использовано для эффективного сдерживания численности колорадского жука.

Работа проводилась при поддержке гранта Президента РФ МК-6278.2015.4.

Библиографический список (References)

Hurst M., Zdybicka-Barabas A., Cytrynska M. Temperature-Dependent *Galleria mellonella* Mortality as a Result of *Yersinia entomophaga* Infection // Applied and Environmental Microbiology. 2015. V.81. N 18.

Wojda Iwona, Taszlow Paulina, Jakubowicz Teresa. The effect of cold shock on the immune response of the greater wax moth *Galleria mellonella* after infection with entomopathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* // Annales UMCS, Biologia. 2015. V. 69. I. 2. P. 7–18.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 131–132

EFFECT OF DIFFERENT TEMPERATURE CONDITION FOR FUNGAL AND BACTERIAL DISEASES OF INSECTS

O.V. Polenogova, V.Yu. Kryukov, O.N. Yaroslavtseva, O.G. Tomilova, E.V. Grizanova, Yu.B. Akhaneaev, I.M. Dubovskiy, V.V. Glupov

Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, ovp0408@yandex.ru

Abiotic factors can efficiently influence development of fungal and bacterial infections of insects. Infective cells of *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* were used to infect *Leptinotarsa decemlineata* larvae which were reared either at low or at high temperature, being optimal for development of fungal and bacterial infections, respectively. Synergism of fungal-bacterial mixture was found both at high and low temperatures. Both pathogens were revealed in cadavers of mix-infected insects. Under low temperature conditions insects were more resistant to infections because of immune system and detoxification enzymes were more effective.

УДК 574.476

КРИТЕРИИ ОТБОРА НОВЫХ ВИДОВ И ПОПУЛЯЦИЙ ЭНТОМОФАГОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ В ОРАНЖЕРЕЯХ БОТАНИЧЕСКИХ САДОВ

Ю.Б. Поликарпова¹, Е.А. Варфоломеева²

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, julia.polika@gmail.com

²Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия

На основании разработанных критериев отбора новых видов и популяций энтомофагов для защиты растений в оранжереях ботанических садов протестированы холодоустойчивые лабораторные культуры *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. и лабораторная культура *Cheilomenes sexmaculata* Fabr. (Coleoptera, Coccinellidae). Выявлена высокая биологическая эффективность энтомофагов.

Ключевые слова: энтомофаги, критерии отбора, оранжереи ботанических садов.

При отборе энтомофагов для защиты растений в оранжереях ботанических садов, необходимо учитывать специфику этих культивационных сооружений, прежде всего регуляцию гиротермического режима. В осенне-зимний период в тропических оранжереях устанавливается температура 18 °С, но она может опускаться до 16 °С. Такой термический режим отрицательно сказывается на эффективности многих паразитов и хищников. При этом фитофаги часто обладают большей устойчивостью к воздействию неоптимальных температур, продолжая свое развитие зимой. Для борьбы с вредителями в осенне-зимний период целесообразен отбор популяций энтомофагов, устойчивых к субоптимальным температурам.

Оранжереи ботанических садов существенно различаются по климатическим условиям. Для них характерно видовое разнообразие растений, с большой долей древесных форм. На растениях отмечается целый комплекс членистоногих вредителей, относящихся к различным систематическим группам. В связи с вышесказанным, критериями отбора энтомофагов могут являться: пластичность по отношению к температуре и влажности, отсутствие явных предпочтений в отношении растений, широкая пищевая специализация. При подборе новых энтомофагов также необходимо учитывать потенциальную инвазивность тестируемых видов. Предпочтение должно отдаваться насекомым, не способным перезимовывать в условиях открытого грунта.

Среди энтомофагов, для которых разработаны рентабельные технологии массового производства, особое место занимают коровки (Coleoptera, Coccinellidae). Представителям этого семейства свойственна высокая экологическая пластичность и значительная продолжительность жизни имаго (2–3 месяца). Некоторые виды являются широкими полифагами. При этом тропические и субтропические виды не способны перезимовывать в открытом грунте на Северо-Западе России. Апробация коровок нами осуществлялась в оранжереях Ботанического сада Ботанического института им. В.Л. Комарова (БИН РАН). Были протестированы лабораторные культуры *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. и *Cheilomenes sexmaculata* Fabr. из коллекции энтомофагов Всероссийского института защиты растений (ВИЗР). *C. montrouzieri* для борьбы с мучнистыми червецами в оранжереях ботанических садов используется только в весенне-летний сезон. Это обусловлено снижением эффективности энтомофага при температурах ниже 20 °С [Hussey, Scopes, 1985].

Начиная с 2011 года, в оранжереях БИН РАН нами используются холодоустойчивые лабораторные культуры *C. montrouzieri*. Эти культуры заложены от природных особей, акклиматизировавшихся на Черноморском побережье Кавказа, в районе городов Сочи и Сухум [Белякова, Поликарпова, 2012]. В оранжерее «Плодовые растения тропиков» применяется лабораторная культура сухумской популяции. В «Большой пальмовой» – лабораторные культуры сочинской популяции. Использование осенью и зимой криптолемуса, устойчивого к воздействию субоптимальных температур, позволяет препятствовать накоплению фитофага в оранжереях осенью и предотвращать весеннюю вспышку численности вредителя [Polikarpova, Varfolomeeva, 2014].

Для решения проблемы наличия в оранжереях сразу нескольких видов фитофагов нами тестируется коровка *Ch. sexmaculata* Fabr. Это широкий полифаг, среди жертв которого отмечено 5 видов клещей и 132 вида насекомых, в том числе 80 видов тлей, 9 – белокрылок, 2 – щитовок, 4 – ложнощитовок, 6 – червецов и 2 вида трипсов [Белякова, Поликарпова, 2014].

Ареал *Ch. sexmaculata* охватывает различные климатические зоны от влажных тропиков до сухих субтропиков [Sharma et al., 2015; Malavannan et al, 2010]. С одной стороны, распространение этого энтомофага позволяет предполагать, что он будет проявлять высокую эффективность в оранжереях с различным климатом. С другой стороны, не представляет опасность в качестве инвайдера. Лабораторная культура *Ch. sexmaculata* была заложена в 2013 году от природных особей, привезенных из Непала. В 2015 году хищник был протестирован одновременно в отношении двух фитофагов: оранжерейной белокрылки – *Trialeurodes vaporariorum* West. (Hemiptera, Aleyrodidae) и мучнистого червеца – *Planococcus ficus* Sign. (Hemiptera, Pseudococcidae). Исследования проводили в оранжерее «Декоративные и полезные растения тропиков» БИН РАН. В качестве модельного растения использовался стефанотис – *Stephanotis floribunda* Wron. Выпуск имаго *Ch. sexmaculata* в количестве 210 особей был осуществлен 10 июня. Начальная средняя численность мучнистого червеца и белокрылки была – 9.1 и 7.7 особей на лист соответственно. Через 30 суток биологическая эффективность хищника в отношении *P. ficus* составила 84%, а в отношении *T. vaporariorum* – 98%.

Литературные и экспериментальные данные позволяют оценить *Ch. sexmaculata* как перспективного энтомофага для применения в оранжереях ботанических садов.

Библиографический список (References)

- Белякова Н.А., Поликарпова Ю.Б. Акклиматизация *Harmonia axyridis* Pall. и *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coccinellidae, Coleoptera) на Черноморском побережье Кавказа. // Вестн. защиты растений. 2012. N 4. С. 43–48.
- Белякова Н.А., Поликарпова Ю.Б. Энтомофаги в защищенном грунте: новые критерии отбора видов и особенности современных агротехнологий // Вестник защиты растений. 2014. N 3. С. 3–10.
- Polikarpova Yu.B., Varfolomeeva E.A. Use of the two populations of *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera, Coccinellidae) from the Black sea coast of the Caucasus for controlling mealybugs in the hothouses of the Komarov Botanical Institute, RAS // Information bulletin IOBC EPRS 46 «Plant protection for ecological sustainability of agrobiocenoses», 21–24 April 2014. Kazakhstan. P 107–110.
- Hussey N.W., Scopes N. Biological pest control: the glasshouse experience. Ithaca; New York: Cornell Univ. Press, 1985, 240 p.
- Sharma P.L., Chauhan U., Sharma K. C. Studies on the diversity of predatory Coccinellid beetles (Coleoptera) in different agro-climatic zones of Himachal Pradesh // The Bioscan. 2015. Vol. 10. Iss. 3. P. 981–985.
- Malarvannan S., Shantha Kumar S.P., Prabavathy V.R., Sudha N., Peter, P.I. Surveillance of insect pests of *Morinda citrifolia* L. and *Morinda pubescens* J.E. Sm. in West Coast of Kerala and Karnataka // WNRF Technical Bulletin 02, World Noni Research Foundation and M.S. Swaminathan Research Foundation. 2010. Chennai. India. P. 28.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 133–134

THE SCREENING CRITERIA OF NEW BIOLOGICAL CONTROL AGENTS TO PROTECT PLANT IN GREENHOUSES OF BOTANICAL GARDENS

Yu.B. Polikarpova¹, E.A. Varfolomeeva²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, julia.polika@gmail.com

²V.L. Komarov Botanical Institute RAS

The screening criteria of entomophagous have been identified for biological control in greenhouses of botanical gardens. Cold-resistant laboratory cultures of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. and laboratory culture of *Cheilomenes sexmaculata* Fabr. (Coleoptera, Coccinellidae) were selected on the basis of these criteria. High biological efficacy of these entomophagous was discovered.

УДК 574.476

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБА *PARAPHOMA* SP. ВИЗР 1.46 ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФИТОТОКСИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИТА

Е.В. Полуэктова, К.П. Большакова, А.О. Берестецкий

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, catcatwow@mail.ru, aberestetski@yahoo.com

Феосферид ингибирует передачу сигнала транскрипционного фактора STAT 3. *Paraphoma* sp. ВИЗР 1.46 – новый гриб, продуцирующий феосферид А при выращивании на агаризованной среде. В наших биотестах это соединение оказалось фитотоксичным. Максимальная продукция феосферид А (до 1.9 г/кг) наблюдалась на перловой крупе на 25–30-е сутки культивирования в темноте.

Ключевые слова: фитотоксин, феосферид А, твердофазная ферментация.

Феосферид А обладает противоопухолевой активностью, действуя на белок STAT3 (signal transducer and activator of transcription), неправильная активация которого вызывает трансформацию клеток и возникновение опухолевых заболеваний. Нами обнаружен новый продуцент этого вещества – гриб *Paraphoma* sp. ВИЗР 1.46. В ходе предварительной работы было выявлено, что при твердофазной ферментации на перловой крупе гриб образует метаболит (выход 130 мг/кг), идентифицированный как известное соединение феосферид А и проявивший сильные фитотоксические свойства. Так, феосферид вызывал появление некрозов для бодяка полевого в концентрации 8.4 мМ; для пырея ползучего – 4.2 мМ, соответственно. В ходе данного исследования были изучены влияние состава субстрата, длительности культивирования и условий освещенности на выход метаболита. В качестве субстрата использовали рисовую, пшённую и перловую крупы. Отбор проб субстрата, колонизированного мицелием, проводили на 10–30 сутки культивирования, с интервалом 5 дней. Влияние освещенности изучали при использовании в качестве субстрата перловой крупы, для этого колбы с

инокулированным зерном культивировали в темноте, при переменном освещении (12 ч в день), в условиях освещения лампами дальнего (300–400 нм) и ближнего (280–315 нм) ультрафиолетового света. Содержание феосферид А в пробах анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В результате работы было определено, что на образование метаболита оказывали влияние состав и влажность субстрата, сроки культивирования и условия освещения. Максимальный выход феосферид А (до 1.9 г/кг) выявили при культивировании *Paraphoma* sp. 1.46 на перловой крупе на 25–30-е сутки роста гриба в темноте, что позволило увеличить выход соединения на порядок, по сравнению с первоначальным уровнем. При изучении спектра биологической активности феосферид А обнаружено, что вещество не обладает антимикробными свойствами и проявляет слабую токсичность в отношении культуры инфузории-туфельки. Это позволяет рассматривать феосферид А в качестве прообраза гербицидного соединения. Исследования выполнены при поддержке РФФИ (проект № 14-26-00067).

OPTIMIZATION OF CULTURE CONDITIONS FOR PRODUCTION OF PHYTOTOXIC METABOLITE FROM *PARAPHOMA* SP. VIZR 1.46

E.V. Poluektova, K.P. Bolshakova, A.O. Berestetskiy

All-Russian Institute of Plant Protection, catcatwow@mail.ru, aberestetski@yahoo.com

Phaeosphaeride A inhibits signaling by the transcription factor STAT 3. *Paraphoma* sp. VIZR 1.46 was found to be a new fungus, which produce phaeosphaeride A when growing on solid state media. In our assays this compound was shown to be phytotoxic. Maximal production of phaeosphaeride A (up to 1.9 g/kg) was observed with pearl barley as a solid medium on the 25–30th day of cultivation in the dark.

УДК 574.476

ГЕРБИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕОСФЕРИДА А, ФИТОТОКСИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИТА ГРИБА *PARAPHOMA* SP. ВИЗР 1.46 И ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ЕЁ ПОВЫШЕНИЯ ЗА СЧЁТ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ С АДЬЮВАНТАМИ

Е.В. Полуэктова, А.О. Берестецкий

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, catcatwow@mail.ru, aberestetski@yahoo.com

Феосферид А, биоактивный метаболит из *Paraphoma* sp. ВИЗР 1.46, показал фитотоксичность. Для оценки его гербицидной активности, проведено тестирование соединения, растворённого в растворителях двух видов и в комбинации с пятью различными адьювантами. Грубый экстракт твердофазной культуры из *Paraphoma* sp. 1.46, содержащий 60% феосферид А, использован в биотестах на целых растениях *Cirsium arvense*. Гербицидный эффект экстракта в комбинации с Хастеном вызвал некроз 70–80% листьев и был в 2.5 раза эффективнее, чем без адьюванта. Эти данные могут быть полезными для дальнейшего исследования гербицидного потенциала феосферид А и создания нового гербицида природного происхождения.

Ключевые слова: феосферид А, адьюванты, Хастен, Биопауэр.

Известно, что многие природные фитотоксины не способны самостоятельно проникать через кутикулу растений. Согласно данным литературы, применение адьювантов в составе гербицидных препаратов позволяет повысить смачиваемость листа, площадь нанесённой капли и проникновение активного вещества в ткань листа [Radivojevic et al., 2011; Yilmaz, Dane 2012]. Многие авторы рассматривают возможности использования адьювантов для повышения эффективности гербицидов и снижения нормы расхода активных компонентов [Gitsopoulos et al., 2008]. Цель работы состояла в оценке влияния 5-ти поверхностно-активных веществ (ПАВ), а также 2-х растворителей (этанола и диметилсульфоксида) на фитотоксическую активность феосферид А. Было определено, что выбор растворителя и добавление адьювантов оказывали существенное влияние на фитотоксическую активность 0.1% раствора феосферид А. Совместное применение адьювантов Хастен и БиоПауэр с раствором фитотоксина повышало его активность в отношении интактных сегментов листьев бодяка полевого и пырея ползучего на 50–70% по сравнению с

действием токсина без ПАВ. В связи с тем, что экстракт из твердофазной культуры *Paraphoma* sp. 1.46 содержал 60% феосферид А и проявил фитотоксическую активность, его использование для обработки целых растений бодяка полевого было более технологично, чем использование чистого соединения. Через 48 часов после обработки растений бодяка раствором, содержащим экстракт из твердофазной культуры гриба с добавлением адьюванта Хастен, площадь некрозов листьев достигала 70–80%. Это приводило к трёхкратному уменьшению массы надземной части растений. Таким образом, 0.5%-ный раствор экстракта из твердофазной культуры *Paraphoma* sp. 1.46 в комбинации с адьювантом Хастен был в 2.5 раза более эффективен по сравнению с действием экстракта без ПАВ. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего изучения гербицидного потенциала феосферид А и оценки возможности создания нового гербицидного средства на его основе. Исследования выполнены при поддержке РНФ (проект № 14-26-00067).

Библиографический список (References)

Radivojevic L., Gasic S., Umiljendic J. G., Santric L., Brkic D. Impact of Different Adjuvants and Modes of Application on Efficacy of Rimsulfuron in Maize. // Pestic. Phytomed. 2011. V. 26. N. 3. P. 255–263.
Yilmaz G., Dane F. Phytotoxicity Induced by Herbicide and Surfactant on stomata and epicuticular wax of Wheat. // Romanian Biotechnological Letters. 2012. V. 17. N.6. P. 7757–7765.

Gitsopoulos, T.K.; Damalas, C.A.; Georgoulas, I. Improving diquat efficacy on grasses by adding adjuvants to the spray solution before use. Planta Daninha. 2014. V. 32. N. 2. P.355–360.

HERBICIDAL ACTIVITY OF PHAEOSPHERIDE A, A PHYTOTOXIC METABOLITE FROM *PARAPHOMA* SP. VIZR 1.46 AND EVALUATION OF ITS ENHANCEMENT BY USING IN COMBINATION WITH ADJUVANTS

E.V. Poluektova, A.O. Berestetskiy

All-Russian Institute of Plant Protection, catcatwow@mail.ru, aberestetski@yahoo.com

Phaeosphaeride A, a bioactive metabolite from *Paraphoma* sp. VIZR 1.46 was shown to be phytotoxic. To evaluate its herbicidal efficacy, phytotoxic activity of compound dissolved in two kinds of solvents and in combination with five different adjuvants was studied. A crude extract of solid culture from *Paraphoma* sp. 1.46, containing 60% of phaeosphaeride A was used in test on whole plants of *Cirsium arvense*. Herbicidal effect of the extract in combination with Hasten caused necrosis of 70–80% of leaves and was 2.5-fold more effective than extract without adjuvants. These findings could be useful for further investigation of herbicidal potential of phaeosphaeride A and for designing a new herbicide of natural origin.

УДК 632.938.1

ЗАВИСИМОСТЬ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ВАНИЛИНА ОТ ИХ КОНЦЕНТРАЦИИ В ПАТОСИСТЕМЕ РАСТЕНИЯ ПШЕНИЦЫ – ВОЗБУДИТЕЛЬ ТЕМНОБУРОЙ ПЯТНИСТОСТИ *COCHLIOBOLUS SATIVUS* (S. ITO & KURIB.) DRECHSLER EX DASTUR

Э.В. Попова¹, Н.М. Коваленко¹, С.В. Сокоорнова^{1,2}, Н.С. Домнина², С.Л. Тютерев¹

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, mail@vizr.spb.ru

²Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, n.domnina@spbu.ru

Показано что иммуномодулирующее действие салициловой кислоты и ванилина по отношению к гембиотрофному патогену *Cochliobolus sativus* определяется концентрацией этих соединений.

Ключевые слова: индуцированная устойчивость, салициловая кислота (СК), ванилин, пшеница, возбудитель темно-бурой пятнистости.

В литературе практически нет сведений о возможности регуляции формирования фитоиммунитета растений антиоксидантами при инфицировании возбудителями грибных болезней со смешанным (гембиотрофным) типом питания. Цель настоящей работы состояла в изучении концентрационных зависимостей иммуномодулирующего действия СК и ванилина на развитие фитопатогена *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur, вызывающего заболевание темно-бурой пятнистости пшеницы.

Модельная система растение-хозяин:патоген состояла из восприимчивого сорта пшеницы Саратовская 29 (*Triticum aestivum* L.) и гембиотрофного патогена *C. sativus*. Опрыскивание листьев 7-дневных пшеницы суспензией спор гриба проводили в концентрации 4000 спор/мл. Варианты опытов включали опрыскивание 7-дневных проростков растворами исследуемых веществ за 24 часа до инокуляции патогеном (из расчета 30 мл на 100 растений). Оценку индуцирующей активности композиций проводили методом отделенных листьев [Михайлова и др., 2012].

В необработанных растениях пшеницы на листьях развивались пятна, занимающие до 50% площади (рис. 1). Обработка ванилином в интервале концентраций от 1мг до 15 мг повышала устойчивость растений к темнобурой пятнистости, что проявлялось в развитии небольших зон некрозов без хлороза, занимающих от 20 до 40% площади листа. Использование ванилина в меньшей концентрации 0.1–0.5 мг не только не уменьшало площадь поражения листьев по сравнению с контролем, а, даже, имело тенденцию к увеличению. Высокая иммуномодулирующая активность ванилина в концентрации 8мг и выше, по види-

тому, связана с усилением активности антиоксидантных систем, в результате обработки пшеницы экзогенным ванилином, и, как следствие, подавлением процесса некрообразования и индуцированием устойчивости растений пшеницы к гембиотрофному грибу *Cochliobolus sativus*.

Обработка растений СК в пределах концентраций 0.1–0.5 мг, снижала развитие болезни на 15–20% (рис. 2). При повышении СК до 1–2 мг отмечено ослабление ее индуцирующей активности. С увеличением концентрации до 5 мг и 8 мг значительно повышается индуцирующая активность СК, что проявляется в снижении пораженности листьев микромицетом на 30% и 75%, соответственно, по сравнению с контролем. Полученные данные согласуются с данными Sari E. и Etebarian H.R. [2007], которые выявили зависимость эффективности СК, как индуктора устойчивости от концентрации на примере поражения пшеницы аскомицетом *Gaeumannomyces graminis* и показали, что СК проявляет индуцирующий эффект в низких концентрациях (от 0.1 и 0.2 мг), а, именно, в тех, которые обладают регуляторной активностью, и вызывают увеличение активности растворимой пероксидазы и количества фенолов в растениях пшеницы. Высокая иммуномодулирующая активность СК в концентрации 5мг и выше скорее всего, обусловлена увеличением содержания СК в проростках пшеницы в результате их обработки (экзогенной салициловой кислотой) и прямым ингибированием развития фитопатогена. Поскольку обработка растений пшеницы СК в концентрации 10 мг вызывала фитотоксичность, то концентрация СК, равная 8 мг является пороговым значением выше которой (10 мг) происходит подавление ростовых процессов растений.

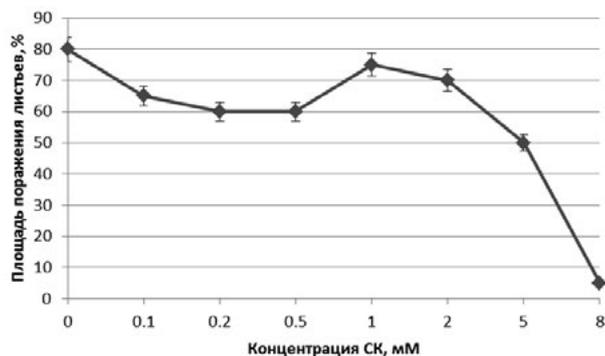


Рисунок 1. Зависимость эффективности салициловой кислоты (СК) как индуктора устойчивости от концентрации в системе *Cochliobolus sativus* – *Triticum aestivum* L.

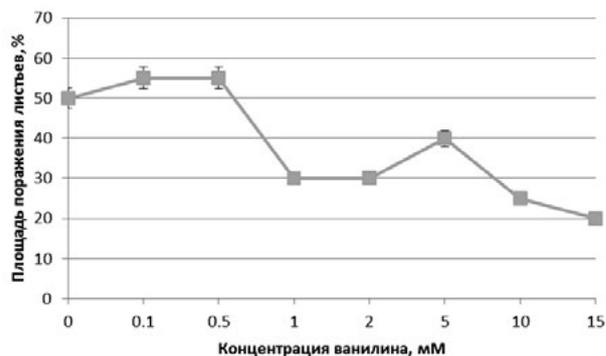


Рисунок 2. Зависимость эффективности ванилина как индуктора устойчивости от концентрации в системе *Cochliobolus sativus* – *Triticum aestivum* L.

Библиографический список (References)

Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяций возбу-

теля желтой пятнистости *Pyrenophoratrifici-repentis* и устойчивости сортов. С-Пб. 2012. С.56

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 136–137

THE CONCENTRATION DEPENDENCE OF THE IMMUNOMODULATORY EFFECT OF THE SALICYLIC ACID AND VANILLINE IN SYSTEM: WHEAT PLANT – *COCHLIOBOLUS SATIVUS* (S. ITO & KURIB.) DRECHSLER EX DASTUR

E.V. Popova¹, N.M. Kovalenko¹, S.V. Sokornova^{1,2}, N.S. Domnina², S.L. Tyuterev¹

¹All-Russian Institute of Plant Protection, mail@vizr.spb.ru

²Saint Petersburg State University, n.domnina@spbu.ru

Inducing effect of SA and vanillin against *Cochliobolus sativus* in wheat was investigated. The results indicate that immunomodulating effect of SA and vanillin depends on their concentration. Vanillin in the range of concentrations (1 mM to 15 mM) significantly reduced disease caused by *Cochliobolus sativus*, but in 0.1–0.5 mM it was not effective. SA showed inducing effect in low (0.1–0.5mM) and high concentrations: above 2 mM.

УДК 631.895

ВЛИЯНИЕ КОМПЛЕКСА БЕТА-ЦИКЛОДЕКСТРИНА С ЭЛЕМЕНТНОЙ СЕРОЙ НА РОСТ ПШЕНИЦЫ

Е.А. Пудова, Е.А. Гильванова

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, gelena@anrb.ru

По результатам работы, комплекс бета-циклодекстрина с элементарной серой (βЦД-6S) оказал стимулирующий эффект на тест-культуру в широком диапазоне концентраций. Эффект проявился в увеличении роста корней и побегов. Обнаружено, что βЦД-6S влияет по-разному на корни и побеги. Несмотря на ингибирующий эффект в отношении побегов, обработка корней βЦД-6S даёт неоднозначные результаты и зависит от концентрации. Комбинированный эффект комплекса компенсирует негативное влияние βЦД за счёт стимулирующего эффекта серы.

Ключевые слова: циклодекстрины, сера, клатратные комплексы, биостимуляторы.

Биологическая активность элементарной серы давно известна и это вещество находит применение в медицине для лечения болезней кожи, в качестве антипаразитарного, биоцидного средства и в качестве добавок, стимулирующих обмен веществ. Элементарная сера также применяется в сельском хозяйстве как средство защиты растений – фунгицид и акарицид [Тропин и др., 1980]. Получение растворимых препаративных форм серы, расширяет об-

ласть ее применения, является актуальной теоретической и прикладной задачей. Одной из таких альтернативных препаративных форм является комплекс включения различных гомологов циклодекстринов, а также гидрокси-пропилированных форм гамма- и бета-циклодекстринов (βЦД) с элементарной серой. В лабораторных условиях были получены клатратные комплексы βЦД с элементарной серой с разным аллотропным содержанием атомов серы,

6 и 8 (Патент РФ №2321598, 2006). Будучи одновременно и важнейшим биогенным элементом, и биоцидным средством, сера способна проявлять стимулирующее или ингибирующее действие на живые системы. В связи с этим, поставлена цель – выявить влияние комплекса βЦД с серой на развитие проростков пшеницы *Triticum durum* L. сорт Башкирская 27.

В работе использовали комплекс бета-циклодекстрина с элементной серой, полученный согласно процедуре, описанной в патенте (Патент РФ №2321598, 2006). Эмпирическая формула комплекса βЦД-6S имеет следующий вид: $1[\beta\text{ЦД}] \cdot [S6] \cdot \text{H}_2\text{O}$ с молярным соотношением серы [S6] к циклодекстрину 1:1.

Материалом для исследований служили стерильные семена, обработанные различными концентрациями комплекса βЦД-6S, βЦД при 2-часовой экспозиции. Далее подсушенные семена по 200 штук в 3 повторностях закладывали во влажные стерилизованные камеры. Проращивание проводили при постоянной температуре и влажности. По всем вариантам учитывали параметры: всхожесть, длину побега и корней, сухой и сырой вес корней/побегов, количество корней. Морфометрический анализ проростков осуществляли на пятые сутки с точностью до 1 мм. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента при уровне вероятности 0.95.

Результаты исследования свидетельствуют, что комплекс бета-циклодекстрина с элементной серой в диапазоне изученных концентраций оказывает стимулирующее влияние на тест-культуру, проявляющееся в увеличении роста корней и побегов по всем вариантам опыта (рис. 1 и 2).

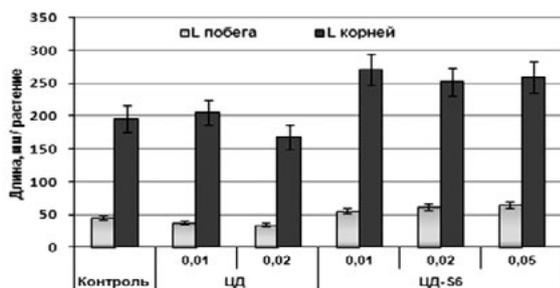


Рисунок 1. Влияние обработки βЦД, βЦД-S6 (в %) семян пшеницы на длину побега/корней на одно растение

Библиографический список (References)

Тропин И.В., Н.М.Ведерников, Р.А. Кронгауз и др. Справочник по защите леса от вредителей с болезнями. М.: Лесная промышленность, 1980. 376 с.

Усанов Н.Г., Гильванова Е.А., Усанов Н.Н., Мелентьев А.И. Комплекс включения элементной серы с циклодекстрином. Патент РФ N 2321598 МПК C08B37/16, 2006.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 137–138

EFFECT OF COMPLEX BETA-CYCLODEXTRIN WITH ELEMENTAL SULFUR ON GROWTH OF WHEAT

E.A. Pudova, E.A. Gilvanova

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, gelena@anrb.ru

According to the study, the complex of beta-cyclodextrin with elemental sulfur in the range of the studied concentrations has a stimulating effect on the test-culture. It is manifested in the increase of length/mass of roots and shoots. It has been found, that βCDS affects the shoot and roots of wheat seedling differently. In spite of the inhibitory effect of βCD-S on the shoot, the treatment of roots by βCD-S is ambiguous and depends on the concentrations. The combined effect of the complex compensates negative influence of βCD. As for the stimulus, it is caused directly by sulfur.

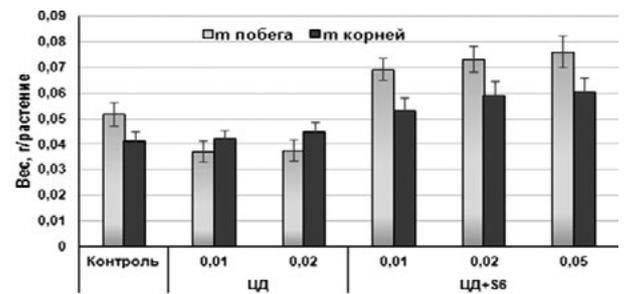


Рисунок 2. Влияние обработки βЦД, βЦД-S6 (в %) семян пшеницы на сырую массу побега/корней на одно растение

Увеличение длины корней при обработке комплексом в варианте 0.01 % составило 38 % по сравнению с контролем. Действие более высоких концентраций 0.02 и 0.05 %, обеспечивших прирост корней на 29 и 32 % соответственно, носит нелинейный характер. Стимулирующий эффект комплекса на длину побега в ряду концентраций 0.01–0.05 % отмечен на 23–44 % соответственно, по сравнению с контролем. При анализе сырой массы корней отмечено увеличение во всех вариантах концентраций 0.01–0.05 % на 30–47 % соответственно. Аналогичная тенденция прослеживается из совокупности данных по среднему сырому весу побега, приводящая к увеличению этого параметра по сравнению с контролем на 34–47 % в ряду соответствующих концентраций 0.01–0.05 %.

Действие βЦД оказывает подавляющий эффект на длину побега и его сырую массу, снижая эти показатели на 24 % и 28 % соответственно. βЦД действует не так однозначно на морфометрические параметры корня как в случае влияния на побег. Так, в концентрации 0.01 % обработка βЦД не оказывает отрицательного воздействия на длину и сырой вес корней, а его удвоенная концентрация ингибирует прирост корня проростка на 14 % и увеличивает их сырую массу на 9 %.

Исходя из того, что совокупный эффект комплекса βЦД-6S нивелирует ингибирующее действие βЦД на рост пшеницы, можно предположить, что разница между полученными эффектами могла быть достигнута действием непосредственно самой серой [S6]. Таким образом, элементная сера, входящая в состав комплекса βЦД оказывает стимулирующий эффект на морфометрические показатели пшеницы на стадии прорастания.

УДК 579.64

НОВЫЙ ШТАММ *PSEUDOMONAS KOREENSIS* ИБ-4. ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРАКТИКЕ

Г.Ф. Рафикова

Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, biolab316@yandex.ru

В работе определены физиолого-биохимические свойства и совокупность полезных для растений свойств нового PGPR-штамма, идентифицированного, как *Pseudomonas koreensis* ИБ-4.

Ключевые слова: PGPR-штаммы, род *Pseudomonas*, ген 16S рРНК, МАЛДИ-масс-спектрометрия, жирные кислоты, антигрибная активность, нитрогеназная активность, ИУК, цитокинины.

Система интенсивного сельскохозяйственного производства подразумевает химизацию земледелия. Широкое применение пестицидов и удобрений для увеличения продуктивности земель зачастую пагубно сказывается на качестве продукции и состоянии экосистемы в целом (загрязнение продуктов растениеводства, формирование устойчивости у возбудителей заболеваний сельскохозяйственных культур, увеличение степени эвтрофикации водоемов и др.). В последние годы в нашей стране, так же как и за рубежом, растет интерес к экологически чистым и сравнительно безопасным в применении микробиологическим препаратам. Поэтому использование PGPR микроорганизмов (от Plant Growing-Promoting Rhizobacteria – ризосферные бактерии, способствующие росту растений) в растениеводстве представляет особый интерес. PGPR-штаммы могут обладать одним или несколькими полезными для роста и развития растений свойствами: способностью подавлять или снижать рост фитопатогенов благодаря возможности синтезировать вещества бактерицидного и фунгицидного действия, стимулировать рост и развитие растений за счет образования биологически активных веществ и способности к азотфиксации. Известен ряд биологических препаратов с антигрибными свойствами, но микроорганизмы, составляющие их основу, как правило, обладают лишь одним или несколькими полезными свойствами, характерными для PGPR-микроорганизмов. В связи с чем, поиск и изучение более эффективных штаммов с комплексом полезных свойств ускоряющих рост и развитие растений, до сих пор остается актуальной проблемой.

Целью работы являлось изучение физиолого-биохимических свойств, таксономического положения и наличия совокупности полезных для растений свойств нового PGPR-штамма.

Объектом исследования являлся штамм бактерий ИБ-4, выделенный из пахотных почв Мечетлинского района Республики Башкортостан, проявляющий антагонизм по отношению к патогенам, принадлежащим к родам *Fusarium*, *Bipolaris*, *Alternaria*.

По совокупности культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств штамм был предварительно идентифицирован как принадлежащий к р. *Pseudomonas* и получил условное (рабочее) название *Pseudomonas* sp. ИБ-4.

Для более точной идентификации бактерии было проведено секвенирование гена 16S рРНК. Сравнительный анализ нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК (KP306893) с известными структурами из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) позволяет с высокой долей

вероятности утверждать, что изучаемый микроорганизм относится к виду *Pseudomonas koreensis* (99.71 % сходства с типовым штаммом вида *P. koreensis* Ps 9-14(T)).

Для определения сходства тотальных геномов была проведена ДНК-ДНК-гибридизация штаммов *Pseudomonas* sp. ИБ-4 и *P. koreensis* Ps 9-14(T) (Корейская Коллекция Сельскохозяйственных Культур). Уровень гомологии составил 71 %, что позволяет говорить о видовом сходстве этих штаммов. Содержание ГЦ-пар в ДНК штамма *Pseudomonas* sp. ИБ-4 составило 61.5 мол.%, а у штамма *P. koreensis* Ps 9-14(T) – 60.7 мол.% [Kwon et. al. 2003]. Близкие значения полученных данных свидетельствуют о вероятной принадлежности сравниваемых штаммов к одному виду.

В результате проведения МАЛДИ-масс-спектрометрии клеточных белков штамма *Pseudomonas* sp. ИБ-4 удалось установить его сходство с микроорганизмом *P. koreensis* Ps 9-14(T) и несколькими типовыми штаммами рода *Pseudomonas* (*P. umsongensis* LMG 21317(T), *P. jessenii* CIP 105274(T), *P. tolaasii* LMG 2342(T)).

Выполненный анализ жирных кислот штаммов *Pseudomonas* sp. ИБ-4 и *P. koreensis* Ps 9-14(T) свидетельствует о различиях в составе и содержании доминирующих жирных кислот в клеточных стенках. Основными жирными кислотами штамма *Pseudomonas* sp. ИБ-4 являются: гексадекановая (C_{16:0}) – 32.4%, цикло-гептадекановая (cyclo-C_{17:0}) – 29.92%, цис-11-октадеценная (C_{18:1w7}) – 11.23 % и гексадеценная (C_{16:1}) – 8.27%.

Анализ хинонов показал, что доминирующим хиноном является убихинон Q9, что полностью согласуется с результатами исследований других представителей р. *Pseudomonas*.

Изучение влияния штамма *P. koreensis* ИБ-4 на фитопатогенные виды грибов показало, что микроорганизм обладает высокой антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным видам микромицетов: *Fusarium avenaceum*, *F. gibbosum*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. nivale*, *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani*, *Alternaria alternata*, *Bipolaris sorokiniana*. В то время как исследованный нами штамм *P. koreensis* Ps 9-14(T) не проявляет каких-либо фунгицидных и фунгистатических свойств по отношению к фитопатогенным грибам.

Установлено, что исследуемый штамм обладает азотфиксирующей способностью. Уровень нитрогеназной активности штамма *P. koreensis* ИБ-4 составлял 0.65 мкгN₂/мл/ч и был сопоставим с данным показателем для таких азотфиксаторов, имеющих в коллекции ВКМ, как *Azotobacter vinelandii* В-1617 и *A. chroococcum* В-1616.

С помощью метода ИФА у штамма *P. koreensis* ИБ-4 выявлена способность к синтезу ИУК и цитокининоподобных веществ на уровне 40 и 119 нг/мл КЖ соответственно.

Проведенные фенологические наблюдения в условиях защищенного грунта показали, что КЖ штамма *P. koreensis* ИБ-4 и используемые в качестве эталона препараты «Планриз» и «Елена» ускоряли наступление основных фаз развития на 1–2 дня. Отмечено, что обработка вегетирующих растений приводила к значительному увеличению урожайности по сравнению с контролем. Так, при использовании биопрепаратов «Планриз» и «Елена» увеличение массы клубней составило примерно 12–26% и 17–38% соответственно, тогда как при обработке растений КЖ штамма *P. koreensis* ИБ-4 – 37–45%.

В полевых условиях обработка посевного материала и вегетирующих растений КЖ *P. koreensis* ИБ-4 также способствовала максимальному увеличению продуктивности картофеля (40–47%) по сравнению с другими препаратами. Выход количества клубней и стандартной фракции семян увеличился соответственно на 39–43% и 35–37%, что превосходит значения, полученные при обработке препаратами «Планриз» и «Елена».

В течение всего вегетационного периода на обработанных растениях картофеля как в условиях защищенного, так и открытого грунта не было обнаружено признаков грибных заболеваний. Тогда как в контрольном варианте в полевых условиях наблюдалось поражение картофеля фитотрофом, развитие болезни составляло 14.5%.

Штамм был запатентован в Российской Федерации в качестве микробного препарата против заболеваний, вызываемых фитопатогенными грибами и для увеличения урожайности (Пат. РФ 2529958).

Таким образом, несмотря на некоторые расхождения в результатах исследования фенотипических и хемотаксономических признаков с большой долей вероятности можно отнести штамм *Pseudomonas* sp. ИБ-4 к виду *Pseudomonas koreensis*. Штамм *P. koreensis* ИБ-4 обладает комплексом полезных для роста и развития растений свойств, не характерных для типового штамма *P. koreensis* Ps 9-14(Т). В частности, он проявляет фунгицидную активность в отношении большого количества фитопатогенных грибов, в том числе и основных возбудителей корневых гнилей злаковых культур; высокую нитрогеназную активность и способность к синтезу ИУК и цитокининоподобных веществ.

Библиографический список (References)

Kwon S.W., Kim J.S., Park I.C., Yoon S.H., Park D.H., Lim C.K., Go S.J. *Pseudomonas koreensis* sp. nov., *Pseudomonas umsongensis* sp. nov. and

Pseudomonas jinjuensis sp. nov., novel species from farm soils in Korea // Int. J. Syst. Evol. Micr. 2003. V. 53. P. 21–27.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 139–140

A NEW BACTERIAL STRAIN, *PSEUDOMONAS KOREENSIS* IB-4. PROSPECTS FOR ITS USE IN AGRICULTURAL PRACTICE

G.F. Rafikova

Institute of Biology Ufa Scientific Centre RAS, biolab316@yandex.ru

A bacterial strain IB-4, antagonistic to plant pathogenic fungi of the genera *Fusarium*, *Bipolaris*, and *Alternaria*, was isolated from arable soils of the Mechetlinskii district, Bashkortostan. Physiological, biochemical, and culture morphological properties of strain IB-4 supported its classification within the genus *Pseudomonas*. In spite of some discrepancies in the results of phenotypic and chemotaxonomic research, analysis of the 16S rRNA gene sequence, DNA–DNA hybridization, GC-content, and MALDI mass spectral data provide considerable evidence supporting its identification as a *Pseudomonas koreensis* strain. *P. koreensis* strain IB-4 was shown to possess the valuable features characteristic of PGPR microorganisms: antifungal and nitrogenase activities and ability to synthesize indole-3-acetic acid (IAA) and cytokinin-like compounds. Field test, in which potato plants were treated with the culture liquid of *P. koreensis* strain IB-4 revealed a positive effect on potato yield and resistance to plant pathogens.

УДК 632.937

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БИОФУНГИЦИДА ВИТАПЛАН НА ЯРОВОМ ЯЧМЕНЕ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДА НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ

Е.С. Рогожникова, А.М. Шпанев

Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург, Россия, office@agrophys.ru

По результатам проведенных исследований определена эффективность нового биологического препарата Витаплан в защите ярового ячменя от болезней на северо-западе Нечерноземья. Полученные данные указывают на невысокий защитный эффект, которым обладает данный препарат по отношению к болезням корневой системы и листьев ярового ячменя. Развитие гельминтоспориоза в посевном материале снижалось на 37.5–53.8%, корневых гнилей – 10.3–18.2%, гельминтоспориозных пятнистостей – 9.3–24.4%, мучнистой росы – 12.5%. Более высокий биологический и хозяйственный эффект достигался при обработке партий семян с низкой степенью зараженности возбудителями корневых гнилей, что позволяет рекомендовать его к применению в этом конкретном случае. Расширить применение

препарата позволяет совместное его использование в баковой смеси со сниженными нормами расхода химических фунгицидов.

Ключевые слова: болезни ячменя, фунгициды, биологические средства защиты растений, биологическая эффективность, хозяйственная эффективность.

Ячмень – основная зернофуражная культура на северо-западе Нечерноземья, получение высоких урожаев которой ограничивается вредными организмами, в том числе фитопатогенами. Защита ячменя от болезней может проводиться не только с помощью химических, но и биологических фунгицидов. При этом использование биологических средств считается приоритетным направлением в защите растений, стремительно развивающимся в последние годы. Для более широкого применения биопрепаратов в защите ячменя от болезней на северо-западе РФ не достаточно сведений по их эффективности. Особенно это касается новых препаратов, одним из которых является Витаплан, СП.

В 2014–2015 гг. на полях Меньковского филиала АФИ в Ленинградской области оценивалась эффективность био-препарата Витаплан, СП в отношении корневых гнилей и листовых болезней ярового ячменя сорта Ленинградский при трех уровнях инфекционной нагрузки. Витаплан, СП – биофунгицид, разработанный на основе бактерий *Bacillus subtilis*, предназначен для предпосевной обработки семян или опрыскивания зерновых в период вегетации. В опытах изучалась эффективность рекомендуемой и удвоенной нормы расхода препарата, смеси препарата со сниженными в два раза нормами расхода химических фунгицидов и химические препараты в чистом виде. Инфекционные уровни создавались посевом семян, зараженных в разной степени возбудителем гельминтоспориоза.

По нашим данным обработка семян ячменя био-препаратом Витаплан, СП в норме расхода 20 г/т приводила к снижению развития гельминтоспориоза на зерне на 37.5%, в норме расхода 40 г/т – 53.8%. При этом эффективность препарата в сильной степени зависела от степени зараженности семенного материала данным возбудителем. При низкой инфекционной нагрузке эффект от применения био-препарата в зависимости от нормы расхода достигал 90.6–98.3%. При среднем уровне зараженности семян гельминтоспориозом Витаплан, СП в норме 20 г/т снижал развитие болезни на 27.2%, в норме 40 г/т – 72.8%. Низкая эффективность изучаемого био-препарата на уровне 2.4–16.7% наблюдалась при сильной зараженности семян гельминтоспориозом. Обработка семян ячменя смесями био-препарата с химическими протравителями в уменьшенных дозировках приводила к снижению развития гельминтоспориоза на 62.9%, в том числе при слабой зараженности семян – 92.2%, средней – 55.2%, сильной – 47.7%.

По влиянию на корневые гнили препарат Витаплан, СП существенно уступал химическим протравителям в чистом виде и их смесям с биофунгицидом. В 2014 г. биологическая эффективность био-препарата в рекомендуемой норме применения составила 10.3%, в 2015 г. – 13.5%, в норме увеличенной в два раза – 18.2%. Химические протравители снижали развитие корневых гнилей на 74.5 и 65%, баковые смеси – 57.9 и 46.8%.

Анализ урожая ярового ячменя показал, что хозяйственная эффективность протравливания снижалась по мере повышения уровня инфекционной нагрузки возбу-

дителей корневых гнилей на семенах. Так, в 2015 г. на вариантах с применением био-препарата Витаплан, СП относительно контроля урожайность составила 128, 119, 86% и 113, 98, 92% соответственно для рекомендуемых норм и увеличенных в два раза. Такую же закономерность можно наблюдать в вариантах с использованием смесей химических и биофунгицидов – 131, 104, 97%. Только химические протравители в чистом виде показали высокий хозяйственный эффект как при слабой (117%), так и сильной (119%) зараженности посевного материала гельминтоспориозом.

Особенностью применения биологических средств защиты с.-х. культур от болезней в период вегетации является двукратное проведение обработки. По нашим данным первая обработка изучаемым биофунгицидом не оказала влияния на развитие гельминтоспориозных пятнистостей. В тоже время проявился защитный эффект 2-й обработки, обеспечившей снижение развития болезни на флаговом листе. При этом рекомендуемые нормы расхода показали эффект на уровне 9.3%, увеличенные в 2 раза – 24.4%. Варианты со смесями уступали по биологической эффективности химическим фунгицидам в чистом виде. Развитие гельминтоспориоза на флаговом листе снижалось на 56.2% или на 13.2% слабее, чем в вариантах с химическими препаратами. Еще меньший защитный эффект отмечался у препарата Витаплан, СП в отношении мучнистой росы. Проявился он только в 2014 году и составил 12.5% снижения развития болезни на 1-м подфлаговом листе. Защитный эффект баковых смесей химических фунгицидов и изучаемого био-препарата оказался равен 75.1 и 70.8% соответственно в 2014 и 2015 гг. Более высокой биологической эффективностью характеризовались варианты с применением только химических препаратов (84.4 и 85.4%).

Изучаемые варианты в опыте с листовыми болезнями имели практически идентичные показатели хозяйственной эффективности, которые достоверно не отличались от контроля. В 2015 г. уровень сохраненного урожая при применении препарата Витаплан, СП в норме 40 г/га составлял 3%, в норме 80 г/га – 6%. В 2014 г. хозяйственного эффекта от двукратной обработки посевов ячменя данным препаратом не наблюдалось.

Таким образом, полученные данные указывают на невысокий защитный эффект, которым обладает новый биофунгицид Витаплан, СП по отношению к болезням корневой системы и листьев ярового ячменя. Развитие гельминтоспориоза в посевном материале снижается на 37.5–53.8%, корневых гнилей – 10.3–18.2%, гельминтоспориозных пятнистостей – 9.3–24.4%, мучнистой росы – 12.5%. Более высокий биологический и хозяйственный эффект достигается при обработке партий семян с низкой степенью зараженности возбудителями корневых гнилей, что позволяет рекомендовать его к применению в этом конкретном случае. Расширить применение препарата позволяет совместное его использование в баковой смеси со сниженными нормами расхода химических фунгицидов.

EFFICACY OF BIOFUNGICIDE VITAPLAN OF SPRING BARLEY NORTH-WEST OF NON-CHERNOZEM REGION

E.S. Rogozhnikova, A.M. Shpanev

Agrophysical Research Institute

Determined the effectiveness of a new biological drug Vitaplan in the protection of spring barley against diseases in the North-West of Non-Chernozem region. The data obtained indicate a low protective effect of the drug in relation to root rot and leaf diseases of spring barley. The development of *Helminthosporium* on seeds was reduced by 37.5–53.8%, root rot – 10.3–18.2%, *Helminthosporium* spot – 9.3–24.4%, powdery mildew – 12.5%. A higher effect was achieved in the processing of seed lots with a low level of infection by root rot pathogens. You can recommend it to use in this particular case. To expand the use of the drug allows joint use in tank mixtures with reduced application rates of chemical fungicides.

УДК: 633.11«324»:631.527

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА *IN VITRO* В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ

В.М. Россеев, И.А. Белан, Л.П. Россеева

Сибирский НИИ сельского хозяйства, Омск, Россия, sibniish@bk.ru

Цель проведенных исследований – оценка *in vitro* селекционного материала пшеницы на устойчивость к засухе. Среда, на которой проводили тестирование *in vitro* образцов пшеницы на засухоустойчивость, индуцирует у эксплантов каллусогенез и в зависимости от генотипа в той или иной степени подавляет процессы морфогенеза. Показателем устойчивости оцениваемых форм служило проявление побегообразования у эксплантов при культивировании их на каллусогенной среде. Корреляционный анализ экспериментальных данных показал наличие существенной связи между индексами устойчивости, определёнными в результате тестирования образцов *in vitro*, и урожайностью анализируемых форм в полевых условиях при засухе. Возможность оценки растений на устойчивость к засухе *in vitro* по методике, использованной в данной работе, объясняется следующим образом: проявление побегообразования у эксплантов при культивировании их на каллусогенной среде отражает надёжность морфогенетических механизмов, которые обуславливают неспецифическую устойчивость генотипа, то есть способность противостоять к неблагоприятным абиотическим факторам среды, в частности к засухе. Полученные результаты показывают возможность использования метода тестирования *in vitro* в селекционном процессе при создании новых форм пшеницы с повышенной засухоустойчивостью.

Ключевые слова: пшеница яровая мягкая, сорт, селекция растений, неблагоприятные абиотические факторы, засухоустойчивость, каллусогенная среда, тестирование *in vitro*.

Объектом исследований служили сорта и новый селекционный материал пшеницы мягкой яровой. В данной работе использована модифицированная методика тестирования *in vitro* образцов пшеницы на устойчивость к засухе, разработанная в ФГБНУ «СибНИИСХ» [Россеев и др., 2010, 2011]. В качестве эксплантов использовали зародыши зрелых семян. Показателем устойчивости оцениваемых форм служило проявление побегообразования у эксплантов при культивировании их на каллусогенной среде. Индексы устойчивости (i_t) рассчитывались по следующей формуле: $i_t = [n_1/(n_1+n_2)] \cdot 100$, где n_1 – число эксплантов, у которых проявляется побегообразование; n_2 – число эксплантов, у которых индуцируется каллусогенез, а побегообразование при этом подавляется. Устанавливался такой режим культивирования эксплантов, при котором у сортов с повышенной засухоустойчивостью $50 < i_t \leq 75$. Полевые опыты проводились согласно рекомендуемой методике [Методика..., 1985].

Чтобы выявить в какой степени используемая лабораторная оценка отражает засухоустойчивость форм, была определена сопряжённость между индексами устойчивости образцов по оценке *in vitro* и урожайностью этих

Таблица. Устойчивость образцов пшеницы по оценке *in vitro* и их урожайность в полевых условиях при засухе

Название образца	Индекс устойчивости по оценке <i>in vitro</i> (i_t)	Урожайность при засухе, т/га (КСИ)
Памяти Азиева	53	1.66
Омская 36	56	1.71
Лютеценс 48/05-7	47	1.47
Лютеценс 151/03-85	43	1.21
Лютеценс 302/05-3	51	1.56
Дуэт	47	1.61
Лютеценс 311/00-3	45	1.36
Лютеценс 134/03-10	47	1.40
Лютеценс 181/95-5-13	59	2.15
Омская 35	56	1.87
Омская 18	60	2.39
Лютеценс 292/00-8	57	2.10
Лютеценс 219/03-13	59	1.83
Лютеценс 6/04-4	55	1.91
Лютеценс 7/04-48	60	1.90
Лютеценс 7/04-26	55	1.82
НСР ₀₅	4.1	0.26

образцов при засухе. Корреляционный анализ экспериментальных данных, представленных в таблице, показал наличие существенной связи между индексами устойчивости, определёнными в результате тестирования образцов *in vitro*, и урожайностью анализируемых форм в полевых условиях при засухе. Коэффициент корреляции равен 0.90.

Возможность оценки растений на устойчивость к засухе в лабораторных условиях по методике, использованной в данной работе, объясняется следующим образом: проявление побегообразования при культивировании эксплантов *in vitro* на каллусогенной среде отражает надёжность морфогенетических механизмов, которые, очевидно, обу-

словливают неспецифическую устойчивость генотипа, то есть способность противостоять к неблагоприятным абиотическим факторам среды, в частности к засухе.

Информация, полученная в результате тестирования селекционного материала *in vitro*, использовалась при создании сортов, которые характеризуются повышенной засухоустойчивостью (Омская 35, Омская 36, Омская 38, Омская краса и Уралосибирская).

Результаты проведённых исследований позволяют рекомендовать использование метода тестирования *in vitro* в селекционном процессе при создании новых форм с повышенной устойчивостью к засухе.

Библиографический список (References)

Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Вып. 1-й. Общая часть. М.: Наука, 1985. 269 с.

Россеев В. М., Белан И. А., Россеева Л. П. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы и ячменя на устойчивость к неблагоприят-

ным абиотическим факторам среды // Доклады Россельхозакадемии, 2010. N 3. с. 14 – 16.

Россеев В. М., Белан И. А., Россеева Л. П. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы на устойчивость к неблагоприятным абиотическим факторам среды. // Вестник АГАУ, 2011. N 2. с. 32–34.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 142–143

THE APPLICATION OF *IN VITRO* METHODS TO WHEAT BREEDING

V.M. Rosseev, I.A. Belan, L.P. Rosseeva

Siberian Agricultural Research Institute, sibniish@bk.ru

The medium (that were used to perform *in vitro* testing of the specimens to the drought resistance) induces the callusogenesis of explants and depending on their genotype more or less suppresses morphogenetic processes. The indicator of the resistivity for investigated specimens was the sprout formation of explants during their cultivation on callusogenic medium. The statistical correlation analysis of the experimental data demonstrated the existence of the significant relation between drought resistance determined by *in vitro* testing and productivity of the specimens in the field trials under drought conditions. The ability to perform the *in vitro* testing of plants to drought conditions using our method, might be explained as following: the sprout formation of explants during their cultivation on callusogenic medium is reflecting the reliability of morphogenetic mechanisms, which determine the nonspecific resistivity of genotype to the adverse abiotic environmental conditions e.g. drought. Therefore, our results demonstrate that the developed *in vitro* testing method can be used for the plant breeding process to create new wheat variety, which to the drought resistance.

УДК 632.912.2

РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ЗЛАКОВОЙ ТЛИ *SCHIZAPHIS GRAMINUM* ПРИ УЧАСТИИ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

С.Д. Румянцев, Г.Ф. Бурханова, С.В. Веселова, И.В. Максимов

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, rumyantsev-serg@mail.ru

Цель исследования – изучение влияния бактериальных штаммов рода *Bacillus* на индукцию неспецифических защитных реакций в растениях пшеницы, инфицированных злаковой тлей (*Schizaphis graminum*). Результаты показали, что изученные бактериальные штаммы повышали устойчивость растений пшеницы к злаковой тле за счет увеличения выработки активных форм кислорода и накопления фенольных соединений. Наибольший защитный эффект оказала смесь бактериальных штаммов.

Ключевые слова: оксидоредуктазы, фенольные соединения, системная устойчивость.

Одним из основных вредителей пшеницы, ухудшающим качество урожая, считается злаковая тля (*Aphididae*), в частности наиболее распространенный на территории России вид – обыкновенная злаковая тля (*S. graminum*). В связи с выработкой многими видами тли устойчивостью к инсектицидам, поиск биопрепаратов, основанных на стимулирующих рост растений бактериях (СРРБ) (от plant growth promoting bacteria – PGPB) является перспек-

тивным направлением в защите от вредителей. Отличительной особенностью тлей, заключающейся в их типе питания, является минимальное нанесение повреждений растению, и, как следствие, вместо классической ответной реакции на поранение индуцируется защитный ответ как при инфицировании патогенами [Guan et al., 2015]. Кроме того, элиситоры тлей, содержащиеся в их слюне, могут вызывать неспецифическую защитную реакцию в

растениях на транскриптомном и протеомном уровнях, вовлекая гены и белки связанные с сигнальными путями салициловой и жасмоновой кислот, окислительным стрессом, засухой, поранением и инфицированием патогенами. В свою очередь, СРРБ обладают ростостимулирующим эффектом и индуцируют системную устойчивость к широкому спектру вредителей и патогенов, характеризующуюся быстрым и ранним накоплением активных форм кислорода (АФК), в том числе пероксида водорода (H_2O_2), который активирует редокс-чувствительные транскрипционные факторы и гены защитных белков [Togges, 2010]. К сожалению роль СРРБ в развитии устойчивости растений к вредителям изучена недостаточно.

Хотя биохимические механизмы устойчивости к злаковой тле еще до конца не изучены, окислительный «взрыв» в месте инфицирования считается типичной реакцией устойчивости [Moloia, van der Westhuizen, 2006]. Наши результаты показали, что мягкая яровая пшеница сорта Салават Юлаев была восприимчива к злаковой тле, так как мы наблюдали отсутствие накопления транскриптов изученных оксидоредуктаз (НАДФН-оксидазы (*NADPH*) и пероксидазы (*PR-9*)), снижение содержания H_2O_2 , снижение активности растворенных пероксидаз (ПО) (табл.), а также не было обнаружено накопления фенольных соединений, также как и накопление мРНК *PAL* (гена фенилаланинаммоний лиазы) (табл.). Обработка растений

бактериальными штаммами (*Bacillus subtilis* 26Д (Bs26D), *B. thuringiensis* ВКПМ-6066 (Bt6066) и *B. thuringiensis* ВКПМ-5689 (Bt5689)) и их смесью (MIX) повышала все изученные показатели в инфицированных тлей растениях (табл.), но эффективнее других вариантов воздействовала на данные показатели смесь штаммов MIX. Гистохимический анализ накопления H_2O_2 в тканях листа пшеницы в местах инфицирования тлями показал отсутствие его генерации в необработанных бактериями растениях и значительное повышение его содержания в вариантах обработанных Bs26D и MIX, в которых наблюдали накопление H_2O_2 в клетках мезофилла, эпидермиса и устьицах. Тогда как в вариантах обработанных Bt6066 и Bt5689 генерацию H_2O_2 наблюдали в большей степени в проводящих пучках и в меньшей – в клетках мезофилла. Кроме того, накопление фенольных соединений в пораженных злаковой тлей листьях было обнаружено только в растениях обработанных бактериями, также как и накопление мРНК *PAL* (табл.).

Таким образом, влияние бактериальных штаммов на устойчивость растений пшеницы к злаковой тле проявлялось через генерацию H_2O_2 , выполняющего роль сигнала в дальнейшей индукции защитного ответа, активируя синтез лигнина и фенольных соединений, необходимых для обезвреживания тли.

Таблица. Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* и их композиции на генерацию H_2O_2 , накопление транскриптов *PR*-генов и активность пероксидазы (ПО) в листьях растений пшеницы через 3 суток инфицирования злаковой тлей *S. graminum*

Вариант	Генерация H_2O_2 , мкМ H_2O_2 /г сырой массы		Накопление транскриптов <i>PR</i> -генов, % от контроля			Активность ПО, оп.ед./мг белка	
	Контроль	<i>S. graminum</i>	<i>NADPH</i>	<i>PR-9</i>	<i>PAL</i>	Контроль	<i>S. graminum</i>
Контроль	20.6±0.2	11.4±0.9	34	165	114	35.6±0.5	22.3±0.8
Bs26D	19.5±0.5	31.4±1.2	340	254	256	39.5±0.5	60.1±0.7
Bt6066	20.1±1.3	39.9±1.5	262	121	128	43.3±1.1	42.4±0.7
Bt5689	18.4±0.9	39.1±1.6	102	180	136	43.4±0.7	40.5±0.6
MIX	20.2±0.6	37.4±1.1	444	270	256	33.6±0.5	50.9±0.8

Библиографический список (References)

- Guan W., Ferry N., Edwards M.G., Othman H., Gatehouse A.M.R. Proteomic analysis shows that stress response proteins are significantly up-regulated in resistant diploid wheat (*Triticum monococcum*) in response to attack by the grain aphid (*Sitobion avenae*) // Mol Breed., 2015. V. 35. N 2. P. 57.
- Moloia M.J., van der Westhuizen A.J. The reactive oxygen species are involved in resistance responses of wheat to the Russian wheat aphid // Journal of Plant Physiology, 2006. V. 163. P. 1118–1125.
- Torres M.A. ROS in biotic interactions // Physiol. Plant., 2010. V. 138. P. 414–429.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 143–144

ROLE OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN THE INTERACTION OF THE WHEAT PLANTS AND THE GRAIN APHID *SCHIZAPHIS GRAMINUM* BY ENDOPHYTIC BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS*

S.D. Rumyantsev, G.F. Burkhanova, S.V. Veselova, I.V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, rumyantsev-serg@mail.ru

The goal of a research is to study the influence of bacterial strains of the genus *Bacillus* on induction of defense responses in wheat plants infected by cereal aphids. Results showed that studied bacterial strains had increased the resistance of wheat plants to cereal aphids by increasing the production of reactive oxygen species and accumulation of phenolic compounds. The mixture of bacterial strains had the greatest protective effect.

УДК 595.7

ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИЕ ЭКДИСТЕРОИДЫ В РЕГУЛЯЦИИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ НАСЕКОМЫХ

Р.Г. Савченко¹, С.А. Костылева¹, В.Н. Одинок¹, Л.В. Парфенова¹,
А.Д. Федотов², Т.Т. Ахметкиреева³, Г.В. Беньковская³.

¹Институт нефтехимии и катализа РАН, Уфа, Россия,

²Башкирский государственный университет, Уфа, Россия,

³Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия,
rimasavchenko@mail.ru

Цель: изучение влияния структурных особенностей полусинтетических производных фитоэкдистероида 20-гидроксиэкдизона на репродуктивную функцию насекомых *Musca domestica*. Метод: биологический скрининг синтезированных образцов ($C=1 \cdot 10^{-7}M$) на тест-объекте *Musca domestica*. Результаты: синтезированные соединения 1–10, полученные в результате химической модификации боковой цепи природной молекулы 20E, угнетающе влияют на репродуктивную функцию экспериментальной модели (*Musca domestica*). Их влияние избирательно, т.е. активность модифицированных экдистероидов в высокой степени зависит от генотипа тест-объекта, тогда как для 20E результаты скрининга адекватно отражают его стимулирующее гонадотропное действие на имаго *Musca domestica*. Область применения: разработка новых подходов к оценке эффективности химических и биологических средств контроля численности насекомых. Выводы: полученные результаты позволяют выявить маркерные структурные фрагменты экдистероидной молекулы в перспективе синтеза новых эффективных биологических средств защиты растений.

Ключевые слова: экдистероид, 20-гидроксиэкдизон, *Musca domestica*, *Serratula coronata*.

Экдистероиды – полигидроксилированные стеринны, впервые были выделены и идентифицированы из насекомых, позже – из растений. Полагают, что являясь гормонами развития насекомых и членистоногих, в растениях они выполняют защитные функции от насекомых – фитофагов [Ахрем, Ковганко, 1989]. На сегодняшний день из источников мировой флоры и фауны выделено и идентифицировано 487 экдистероидов (www.ecdybase.org), объединенных общей структурой. Наиболее доступным, распространенным и хорошо изученным экдистероидом по праву считается 20-гидроксиэкдизон (20E), поскольку содержание его в некоторых видах растений рода *Serratula* достигает 3%. Разработанный нами эффективный метод выделения экдистероидной субстанции из сока растения *Serratula coronata* позволяет проводить направленные химические трансформации 20E для синтеза нового поколения экологических средств защиты растений.

С целью изучения влияния структурных особенностей полусинтетических производных фитоэкдистероида 20-гидроксиэкдизона на репродуктивную функцию насекомых *Musca domestica* синтезированы новые соединения

на его основе с вариативной боковой цепью. Боковая цепь экдистероидов является маркерным структурным фрагментом стероидной молекулы в ее направленной функционализации для придания новых биологически-активных свойств. С использованием трансформаций гидроксильных групп боковой цепи молекулы 20E были синтезированы соединения 1–10 (рис.).

Известно, что уровень экзогенных гормонов у насекомых снижается в периоды смены онтогенетических стадий [Kozlova, Thummel, 2000; Груntenко, 2008]. Использование экспериментальной модели (*Musca domestica*) на различных стадиях онтогенеза позволяет качественно и количественно оценить степень влияния полусинтетических экдистероидов на биологические показатели (сроки и успех развития, репродукцию, продолжительность жизни, устойчивость к стрессорам) в сравнении с истинным эндогенным гормоном (20E). Оценка действия синтезированных образцов проведена на личинках комнатной мухи III стадии из линий с сокращенной (линия *Sh gen*, 22–25 суток) и увеличенной (*L gen*, 45–50 суток) [Беньковская, Мустафина, 2012] продолжительностью жизни.

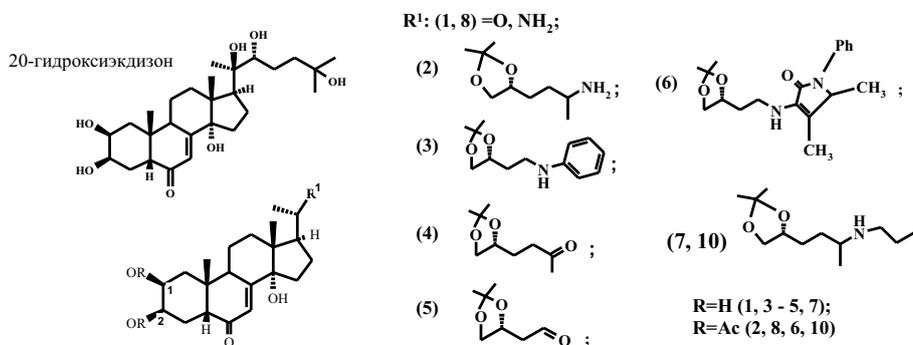


Рисунок. Структурные формулы соединений 1–10

В результате проведенного биологического скрининга установлено, что синтезированные соединения 1–10, полученные в результате химической модификации боковой цепи природной молекулы 20E, угнетающе влияют на репродуктивную функцию экспериментальной модели

(*Musca domestica*). Активность действия модифицированных экдистероидов в высокой степени зависит от генотипа тест-объекта. Интересно отметить, что для 20E результаты скрининга адекватно отражали его стимулирующее гонадотропное действие на имаго *Musca domestica*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 16-33-00685 мол_а. Структурные исследования соединений 1–10 проведены

в Центре коллективного пользования «Агидель» при ФГБУН Институте нефтехимии и катализа РАН.

Библиографический список (References)

Ахрем А.А., Ковганко Н.В. Эндостероиды. Химия и биологическая активность. // Минск: Наука и техника. 1989. 325 С.
Kozlova T., Thummel C.S. Steroid regulation of postembryonic development and reproduction in *Drosophila* // Trends Endocrinol. Metab.. 2000. V.11. P. 276–280.

Грунтенко Н. Е. Стресс и размножение насекомых: гормональный контроль // Евразийский энтомологический журнал. 2008. Т. 7. Приложение 1. С. 3–46.

Беньковская Г.В., Мустафина Р.Ш. Выявление новой сцепленной с полом мутации ломкости крыльев (*fw*) и *Musca domestica* L. с зависимой от возраста экспрессивностью // Генетика. 2012. Т. 49. N 2. С. 266–269.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 145–146

SEMI-SYNTHETIC ECDYSTEROIDS IN REGULATION OF VITAL ACTIVITY OF INSECTS

R.G. Savchenko¹, S.A. Kostyleva¹, V.N. Odinokov¹, L.V. Parfenova, A.D. Phedotov²,
T.T. Akhmetkireeva³, G.V. Benkovskaya³.

¹*Institute of Petrochemistry and Catalysis of RAS*

²*Bashkir State University*

³*Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, rimasavchenko@mail.ru*

The aim: studying of the influence of structural features of phytoecdysteroid 20 hydroxyecdysone derivatives on the reproductive function of the test-model *Musca domestica*. Method: biochemical screening of the synthesized samples ($C = 1 \cdot 10^{-7}$ M). Results: compounds 1–10 were obtained for the first time by modifying of the side chain of ecdysteroid (20E) and were found a depressed effect on the reproductive function of insect (*Musca domestica*). Moreover, the activity of ecdysteroids (with modified side chain) is highly dependent on the genotype of the test object. Phytoecdysteroid 20E was shown adequately reflect its stimulating gonadotropic effect on the adults of *Musca domestica*. Application field: development of new approaches for effective estimation of chemical and biological tools for pest control. Conclusion: our results can detect essential fragments of ecdysteroid's structure for the further develop of new effective biological plant protection products.

УДК 632.937

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗРАБОТКИ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ЗАЩИТЕ РАСТЕНИЙ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ В КАЗАХСТАНЕ

А.О. Сагитов¹, А.М. Успанов¹, А.С. Каменова¹, Н.Д. Слямова¹,
Б.А. Дуйсембеков¹, В.В. Глупов², Г.Р. Леднёв³

¹*Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан*

²*Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия*

³*Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, georgijled@mail.ru*

За последние годы в Казахстане сотрудниками Казахского НИИ защиты и карантина растений (КазНИИЗиКР, Алматы) при тесном взаимодействии с российскими коллегами из Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР, С-Петербург) и Института систематики и экологии животных (ИСиЭЖ, Новосибирск) проведен значительный объем исследований по разработке новых отечественных биологических препаратов для снижения численности целого ряда групп вредных членистоногих.

Ключевые слова: биопрепарат, вредные членистоногие, энтомопатогенные грибы, энтомопатогенные бактерий, Ак көбелек, с.п., Ларвибакт, микроинсектициды.

В последние десятилетия во всем мире большую актуальность приобретают вопросы, связанные с производством экологически безопасной сельскохозяйственной продукции. Одним из наиболее проблемных направлений здесь является защита растений от вредных членистоногих, поскольку основным способом подавления их численности является химический метод. Однако хорошо известно, что широкомасштабное применение синтетических пестицидов приводит не только к накоплению токсичных веществ в продуктах питания растительного и животного происхождения, но и нарушению экологического равновесия в экосистемах, появлению резистентных форм вредителей и губительному действию на нецелевую фауну (насекомых – энтомофагов и опылителей, птиц, рыб и др.). Значительное снижение пестицидного прессинга может обеспечить использование экологически безопасных

способов контроля численности вредных членистоногих, включая применение микробиологических биопрепаратов.

В Казахстане до начала XXI века исследования по разработке биопрепаратов для борьбы с вредителями с/х культур носили фрагментарный характер. В течение последнего десятилетия сотрудниками Казахского института защиты и карантина растений (КазНИИЗиКР, Алматы) при тесном взаимодействии с российскими коллегами из Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений (ВИЗР, С-Петербург) и Института систематики и экологии животных (ИСиЭЖ, Новосибирск) достигнут определенный прогресс в области микробиологической защиты растений.

За этот период нами были проведены интенсивные совместные работы, направленные на массовое пополнение

коллекции энтомопатогенных микроорганизмов – возбудителей микозов и бактериозов членистоногих. Так, если до этого времени коллекция КазНИИЗиКР насчитывала всего 78 штаммов, причем значительная их часть была не местного происхождения, то в настоящее время, в результате активной экспедиционной деятельности, она включает в себя 287 аборигенных культур энтомопатогенных грибов из анаморфных родов (*Beauveria*, *Isaria*, *Metarhizium* и др.) и 47 местных штаммов и природных изолятов бактерий группы *Bacillus thuringiensis*. При этом коллекционные фонды постоянно пополняются новыми изолятами из различных природно-климатических зон Казахстана и сопредельных территорий. Идентификация полученных культур проводится с использованием не только классических методов микологии и бактериологии, но и современных молекулярно-генетических маркеров. Так, в последние три года было проведено генотипирование более 100 штаммов грибов, позволившее обнаружить криптические виды и их внутривидовые формы, имеющие определенную географическую и стациональную принадлежность.

Создание обширных рабочих коллекций энтомопатогенных микроорганизмов позволило в значительной мере продвинуться в вопросах, связанных с разработкой новых биологических инсектицидов.

В 2005 году совместно с сотрудниками ИСиЭЖ из погибших гусениц американской белой бабочки (*Hyphantria cunea*) был выделен новый штамм *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki*, показавший в ходе лабораторных тестов высокую вирулентность на ряде видов листогрызущих чешуекрылых. В следующем году была получена опытная партия препарата на основе этого штамма и проведены ее полевые испытания, показавшие высокую биологическую эффективность. В последующие два сезона этот биопрепарат под торговым наименованием «Ақ көбелек, с.п.»

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 146–147

прошел регистрационные и производственные испытания на разных с/х культурах и парковых насаждениях против различных видов вредных чешуекрылых, и в следующем году был зарегистрирован и включен в «Справочник пестицидов (ядохимикатов), разрешенных к применению на территории Республики Казахстан». Биологическая эффективность данного продукта несколько превышает значения этого показателя для бактериальных аналогов и не уступает химическим инсектицидам (80–100%). Круг чувствительных вредителей обширен и включает более 40 видов чешуекрылых. Сейчас на стадии регистрации находится еще один наш аналогичный бактериальный препарат (к-Ум07/КБ) под торговой маркой «Ларвибакт», превосходящий предыдущий по ряду технологических показателей.

В эти же годы проводились интенсивные работы по созданию новых микоинсектицидов. К настоящему времени в результате массового скрининга в качестве перспективных штаммов-продуцентов для создания новых биопрепаратов отобрано десять новых казахстанских штамма грибов *Beauveria bassiana* и *B. pseudobassiana*, обладающих высокой вирулентностью в отношении различных видов саранчовых, колорадского жука, комплекса сосущих вредителей защищенного грунта, лабильностью к абиотическим факторам среды и продуктивностью. Разработаны регламенты их производства и применения. Показана высокая эффективность лабораторных образцов микоинсектицидов (70–100%) в аридных условиях Юго-Восточного и Северного Казахстана.

В целом, за последние годы нами проведен значительный объем исследований по разработке новых отечественных биологических препаратов для снижения численности целого ряда групп вредных членистоногих.

PROSPECTS OF THE BIOLOGICAL PREPARATIONS DEVELOPMENT AND APPLICATION FOR PEST CONTROL IN KAZAKHSTAN

¹A.O. Sagitov, ¹A.M. Uspanov, ¹A.S. Kamenova, ¹N.D. Slyamova, ¹B.A. Duisembekov, ²V.V. Glupov, ³G.R. Lednev

¹Kazakh Research Institute for Plant Protection and Quarantine

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS

³All-Russian Institute of Plant Protection, georgijled@mail.ru

Over recent years in Kazakhstan by scientists of the Kazakh Institute of plant protection and quarantine (Almaty) in close cooperation with Russian colleagues from the All-Russian Research Institute of Plant Protection (St. Petersburg) and the Institute of Animal Systematics and Ecology (Novosibirsk) was carried out a significant volume of research on development of the new domestic biological preparations to reduce the number of harmful arthropods groups.

УДК 575.635.64

ВЫЯВЛЕНИЕ УСТОЙЧИВЫХ К АЛЬТЕРНАРИОЗУ ГЕНОТИПОВ ТОМАТА МЕТОДАМИ ПЫЛЬЦЕВОГО АНАЛИЗА

Т.И. Салтанович, Л.П. Анточ

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, tatianasalt@mail.ru

Цель исследований: выявление устойчивых к альтернариозу генотипов томата по вариабельности и признаков мужского гаметофита на селективных фонах с культуральным фильтратом патогенов *Alternaria* spp. При проведении экспериментов использовали набор методов гаметной селекции и генетико-статистического анализа. Выявлены закономерности изменчивости и наследуемости признаков мужского гаметофита томата на средах с фильтрами

патогенов. Установлены различия по устойчивости пыльцы к действию фильтратов, проведена дифференциация и отбор генотипов для дальнейшей селекции. Проведенные исследования могут быть использованы на различных этапах селекционного процесса.

Ключевые слова: мужской гаметофит, устойчивость, изменчивость, наследуемость, альтерналиоз, культуральный фильтрат, отбор.

Устойчивость репродуктивной системы растений и ее отдельных компонентов к действию абиотических и биотических факторов является одним из важных показателей адаптивности генотипов. В настоящее время ряд признаков мужского гаметофита растений довольно активно и успешно используется для оценки, дифференциации и последующего отбора генотипов, устойчивых к действию различных абиотических и биотических факторов [Юрлова 2006; Ведадеваре 2007; Ravikumar, Chikkodi, 1998; Shobha Rani, Ravikumar, 2006].

При этом для характеристики устойчивости мужского гаметофита на селективных фонах анализируют, в большинстве случаев, такие функциональные показатели как жизнеспособность и устойчивость пыльцы *in vitro*, длину пыльцевых трубок и их устойчивость к действию одного или нескольких факторов, либо их сочетанию. В тоже время известно, что в селекции томатов на устойчивость к альтерналиозу имеются значительные проблемы, как в создании устойчивых сортов, так и в генетическом контроле этого признака. По мнению ряда авторов это связано с тем, что устойчивость к заболеванию коррелирует с некоторыми нежелательными признаками, что лимитирует использование этих сортов в качестве доноров в селекционных программах [Chaerani, Voorigrips, 2006]. Селекция на уровне мужского гаметофита в этом плане может представлять особый интерес, т.к. позволяет осуществлять идентификацию и выделение устойчивых к патогенам генотипов еще на репродуктивных этапах развития. Успешная реализация исследований такого плана основана на гетерогенности мужского гаметофита по устойчивости к влиянию селективных факторов.

Цель проведенных исследований состояла в выявлении устойчивых к альтерналиозу генотипов томата по варибельности признаков мужского гаметофита на селективных фонах с культуральным фильтратом патогенов *A. consortiale* и *A. alternata*.

Эксперименты проводили с набором внутривидовых гибридных комбинаций F₁ томата, которые выращивали в полевых условиях по общепринятой методике до стадии цветения. Собранную пыльцу высевали для проращивания на 2 варианта искусственных питательных сред: контрольный и опытный, дополненный культуральным фильтратом (КФ) патогенов. Культивирование пыльцы проводили в термостате при оптимальном температурном режиме 26–28 °С. Анализировали препараты под микроскопом,

определяли жизнеспособность и устойчивость пыльцевых зерен; длину и устойчивость пыльцевых трубок. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакетов программ Statgraphics v. 5.2 и Exel 2013.

В результате проведенных исследований установлено, что действие фильтрата патогенов оказывает существенное влияние на изменение признаков мужского гаметофита. Так, у большинства генотипов отмечено снижение жизнеспособности пыльцы в опытных вариантах относительно контроля в 1.4–8.3 раза в зависимости от генотипа и культурального фильтрата. Варибельность по длине пыльцевых трубок была наиболее существенной, в опытных вариантах в зависимости от гибрида значения этого показателя снизились в 4.5–11.2 раз, что, вероятно, свидетельствует об их высокой чувствительности к патогену. В тоже время установлено, что реакция генотипов была дифференцированной. Так, например, у гибрида F₁ VenetxElvira жизнеспособность пыльцы в опыте превышала значения контроля на 20.0%, т.е. обнаружен стимуляционный эффект, что может быть связано с повышенной устойчивостью пыльцы этого гибрида к действию КФ *A. consortiale*. Среди изученных генотипов выделились гибридные комбинации ElviraxMilenium, ElviraxPrestij, JubiliarxMilenium, VictorinaxMihaela, M.GratifulxElvira с уровнем устойчивости пыльцы 55.8–83.8%. Одновременно установлено, что у 4 гибридов показатели устойчивости, были гораздо, более низкими и составляли 22.5–33.4%. На основе анализа коэффициентов наследуемости анализируемых признаков выявлено, что наследуемость этих показателей достоверно обусловлена взаимодействием родительских форм (45.6–66.9%). Обобщая полученные результаты, можем отметить, что около половины изученных гибридов проявили более высокий уровень устойчивости пыльцы к действию КФ *A. consortiale*, тогда как только у 18.0% гибридов гаметофит был более устойчив к КФ *A. alternata*. Такие результаты, по нашему мнению, свидетельствуют о том, что действие КФ *A. alternata* более токсично и в результате сильнее ухудшает качество пыльцы.

Таким образом, показана возможность идентификации и отбора генотипов с разным уровнем устойчивости мужского гаметофита к патогенам *Alternaria spp.*, что может успешно использоваться на различных этапах селекционного процесса для диагностики устойчивости генотипов на стадии зрелой пыльцы.

Библиографический список (References)

- Ведадеваре С. Технология получения стрессоустойчивого исходного материала томата на основе методов гаметной селекции и молекулярного анализатора. Автореф. дис. к. с.-х.н. Москва. 2007. 25 с.
- Юрлова Е. Оценка томатов на устойчивость к нерегулируемым абиотическим факторам. Сиб. Вестник с-х. Наук, 2006. N 2. С.27–36.
- Chaerani R., Voorigrips R. Tomato early blight (*Alternaria solani*): the pathogen, genetics, and breeding for resistance // J.Gen.Plant Pathol., 2006. V.72. P.335–347.
- Ravikumar R., Chikkodi. S. Association between sporophytic reaction to *Alternaria helianthi* and gametophytic tolerance to pathogen culture filtrate in sunflower (*Helianthus annuus L.*) // Euphytica, 1998. V.103. P.173–180.
- Shobha Rani T., Ravikumar R. Sporophytic and gametophytic recurrent selection for improvement of partial resistance to *Alternaria* leaf blight in sunflower (*Helianthus annuus L.*) // Euphytica, 2006. V.147. P.421–43.

DETECTION OF RESISTANT TO ALTERNARIA TOMATO GENOTYPES BY POLLEN ANALYSIS METHODS

T.I. Saltanovich, L.P. Antoci

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, tatianasalt@mail.ru

Research objective: to identify tomato genotypes resistant to *Alternaria* on variability and symptoms of male gametophyte on selective backgrounds with cultural filtrate of pathogens *Alternaria spp.* A set of gamete breeding techniques and genetic-statistical analysis were used in the experiments. Some patterns of the variability and heritability of traits in the tomato male gametophyte have been identified on media with filtrates of pathogens. The differences in the resistance of pollen to the filtrate influence were established; the differentiation and selection of genotypes for further breeding were made. These studies can be used at different stages of the selection process.

УДК 633.112

НАСЛЕДОВАНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РЕЦИПРОКНЫХ ГИБРИДОВ *TRITICUM AESTIVUM* L К КУЛЬТУРАЛЬНОМУ ФИЛЬТРАТУ ПАТОГЕНА *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM

Е.Ф. Сашко

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, elena_sasco@mail.md

Исследованы процессы каллусогенеза зрелого зародыша *in vitro* и роста корешка и стебелька на ранней стадии онтогенеза у родительских форм ВТ 16-04, Л 101, Одесский 267 и 6-ти реципрокных гибридов F₁ озимой мягкой пшеницы. В качестве селективного фактора был использован 21-дневный культуральный фильтрат (КФ) изолята *Helminthosporium avenae* (*Drechslera avenae* Eidam) в концентрациях 30% и 100%, соответственно добавленный в питательную среду Мурашиге-Скуга (МС) *in vitro* и для обработки семян в лабораторных условиях. Семена стерилизовали в течение 1 мин в 96%-ном этаноле, в течение 20–30 мин – в 6–9%-ном растворе хлорной извести, затем 5-кратно промывали стерильной дистиллированной водой и оставляли на 2–3 часа при температуре 33 °С для проклеивания. Апикальную меристему зародыша переносили в чашки Петри [Россеев, 2011] на питательную среду МС, содержащую полный набор макро- и микроэлементов, витамины [Murashige, 1962], 2,4-Дихлорфеноксиуксусную кислоту (4 мг/л), инозит (100 мг/л), сахарозу (3%) и агар (0.7%) [Овчинникова, 2006]. Для индукции каллусообразования культуры выращивали в темноте при температуре 25 °С. Частоту каллусогенеза и площадь поверхности каллуса определяли на 28-е сутки. Длину корешка и стебелька пшеницы измеряли на 6-е сутки после обработки семян КФ [Лупашку, 2011].

Ключевые слова: зрелый зародыш, апикальная меристема, частота каллусогенеза, площадь поверхности каллуса, длина корешка и стебелька.

Результаты и обсуждение. Оценка селекционного материала при действии биотических и абиотических факторов среды успешно используется при изучении генетических механизмов и эффективного создания устойчивых сортов [Lupascu, 2004; Зобова, 2009; Россеев, 2011].

В контрольном варианте гибридные популяции показали промежуточные значения частоты индукции каллусогенеза и площади поверхности каллуса. В некоторых случаях данные значения оказались на уровне или выше лучшего по признаку родителя. Гибриды ВТ 16-04 х Л 101 и Одесский 267 х Л 101 обладали большей интенсивно-

стью каллусогенеза по сравнению с реципрокными. При формировании данного признака генотипы ВТ 16-04 и Л 101 проявили соответственно материнский и отцовский эффекты. При формировании признака площади каллуса в комбинации Л 101 х ВТ 16-04 проявился отцовский эффект ВТ 16-04.

В варианте с КФ *H. avenae* частота и площадь каллуса у большинства изученных популяций дифференцированно ингибировались. Положительный отцовский эффект проявил генотип ВТ 16-04 для признака площадь каллуса в обеих комбинациях (табл. 1).

Таблица 1. Каллусогенез зрелых зародышей озимой пшеницы у реципрокных гибридов под действием КФ *Helminthosporium avenae*

Родительские формы / реципрокные гибриды	Частота каллусогенеза, %		Площадь поверхности каллуса, мм ²	
	Контроль	КФ <i>H. avenae</i>	Контроль	КФ <i>H. avenae</i>
ВТ 16-04	75.0±2.3	63.8±1.4*	9.1±0.2	8.0±0.2*
Л 101	67.9±3.1	51.7±3.2*	9.0±0.2	7.5±0.2*
Одесский 267	66.0±3.3	54.3±1.7*	8.9±0.4	7.5±0.2*
ВТ 16-04 х Л 101	76.2±1.4	65.4±2.5*	8.8±0.2	7.9±0.3*
Л 101 х ВТ 16-04	67.0±3.1	65.9±3.4	9.4±0.3	8.8±0.3
ВТ 16-04 х Одесский 267	66.5±2.8	66.1±2.0*	9.7±0.3	8.4±0.3*
Одесский 267 х ВТ 16-04	64.8±2.2	64.2±4.8	9.8±0.3	9.0±0.3*
Л 101 х Одесский 267	70.4±1.1	56.9±4.8*	9.5±0.3	8.3±0.3*
Одесский 267 х Л 101	76.7±3.4	55.7±1.8*	9.4±0.3	8.6±0.3*

* – Различия существенны при P ≤ 0.05

Между интенсивностью каллусогенеза и площадью каллуса обнаружена средняя корреляционная зависимость, положительная – в варианте с КФ *H. avenae* (0.33), а отрицательная – в контрольном (–0.40). Между площадью каллуса в контрольном варианте и с КФ была установлена существенная положительная корреляция (0.84).

В контрольном варианте длина корешка и стебелька варьировали в следующих пределах: 90.9–121.0 и 54.2–82.3 мм соответственно. Большие значения ростовых параметров у гибрида Одесский 267 х ВТ 16-04 по сравнению с реципрокным обусловлены положительным отцовским эффектом генотипа ВТ 16-04 для обоих параметров.

В варианте с КФ *H. avenae* наблюдалось дифференцированное ингибирование роста корешка и стебелька, а более восприимчивым к метаболитам патогенна оказался признак длина зародышевого корешка. Была выявлена позитивная роль цитоплазматического родителя Одесский 267 при формировании признаков роста корешка и стебелька у гибридов Одесский 267 х ВТ 16-04 и Одесский 267 х Л 101 по сравнению с реципрокными. Генотип Одесский 267 отличался более высокими значениями параметров роста, что свидетельствует о его большей устойчивости к КФ *H. avenae* (табл. 2).

Таблица 2. Влияние КФ *Helminthosporium avenae* на длину корешка и стебелька растений пшеницы, мм

Родительские формы / реципрокные гибриды	Длина корешка		Длина стебелька	
	Контроль (Н ₂ О)	КФ <i>H. avenae</i>	Контроль (Н ₂ О)	КФ <i>H. avenae</i>
ВТ 16-04	118.2±2.5	84.8±3.7*	70.9±1.9	64.7±2.7*
Л 101	102.7±3.2	95.9±3.3*	72.3±2.1	85.5±2.0*
Одесский 267	102.5±3.0	111.0±2.4*	60.2±1.7	68.8±1.2*
ВТ 16-04 х Л 101	121.0±3.1	98.6±3.1*	82.3±2.1	80.3±1.8
Л 101 х ВТ 16-04	115.7±2.6	104.0±3.0*	78.5±2.2	76.4±2.0
ВТ 16-04 х Одесский 267	90.9±2.8	83.9±2.0*	54.2±1.6	59.2±1.3*
Одесский 267 х ВТ 16-04	101.5±2.2	104.2±2.6	61.7±1.2	67.5±1.4*
Л 101 х Одесский 267	106.6±2.9	100.2±3.4	67.5±1.8	72.3±2.2*
Одесский 267 х Л 101	101.4±2.8	124.1±2.3*	65.7±1.7	85.8±1.8*

* – Различия существенны при $P \leq 0.05$

Библиографический список

- Лушак Г.А., Сашко Е.Ф., Гавзер С.И. Взаимодействие растений пшеницы с возбудителями корневой гнили // Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция): сб. науч. тр. М., 2011. Т. IV. Ч. I. С. 101–106.
- Овчинникова В.Н., Варламова Н.В., Мелик-Саркисов О.С. и др. Индукция каллусообразования и регенерации растений ячменя *Hordeum vulgare* L. в культуре зародышей // С.-х. биология, 2006. N 1. С. 74–79.
- Россеев В.М., Белан И.А., Россева Л.П. Тестирование *in vitro* яровой мягкой пшеницы на засухоустойчивость // Вестник алтайского государственного аграрного университета, 2011. N 2 (76). С. 32–34.
- Lupascu G., Fandeev E. Genetica rezistentei culturii triticeale la fuzarioza. Cercetari *in vitro*. Chisinau: Tipografia A.S.M., 2004. 136 p.
- Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture // Physiologia Plantarum, 1962. V. 15. P. 473–497.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 149–150

THE INHERITANCE OF THE RESISTANCE OF RECIPROCAL HYBRIDS *TRITICUM AESTIVUM* L. TO THE FILTERED CULTURES OF THE PATOGEN *HELMINTHOSPORIUM AVENAE* EIDAM

E.F. Sasco

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, elena_sasco@mail.md

Given are the results of studying the frequency of callose and callus area of mature embryos of common winter wheat and growth of root and stem at an early stage of ontogeny at six F₁ hybrids derived from the reciprocal cross over of genotypes: ВТ 16-04, Л 101, Odeschi 267. The reaction of the *Helminthosporium avenae* culture filtrate, supplemented in environment MS was established the paternal role of genitor ВТ 16-04 in increasing callus area. As the action of pathogen metabolites it has been identified the positive effect of the maternal parent Odeschi 267 in reciprocal hybrids generation to form signs spine length and peduncle.

УДК 632.936:595.763/.768; 582.288.4

ВЛИЯНИЕ ЛЕТУЧИХ СОЕДИНЕНИЙ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ВРЕДИТЕЛЕЙ ЗАПАСОВ

О.Г. Селицкая, Г.В. Митина, А.В. Щеникова, А.А. Чоглокова, М.В. Левченко

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, oselitskaya@mail.ru; galmit@rambler.ru

Выявлена способность летучих соединений энтомопатогенных грибов вызывать у двух видов жуков – вредителей запасов различные поведенческие реакции. Установлено, что мицелий *B. bassiana* и *M. anisopleae* выделяет летучие соединения с репеллентными свойствами, а *L. muscarium* – с аттрактивными свойствами для амбарного долгоносика. У жуков рисового долгоносика наблюдалась нейтральная реакция на все три вида грибов, но вектор привлечения совпадал с полученными результатами для амбарного долгоносика. Изучена вирулентность *L. muscarium* в отношении амбарного

долгоносика: смертность имаго составила 60% на 28 день после заражения при концентрации 10^8 спор/мл. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке способов применения энтомопатогенных грибов против вредителей запасов.

Ключевые слова: *Lecanicillium muscarium*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, репеллентный и аттрактивный эффекты, амбарный и рисовый долгоносики.

Известно, что энтомопатогенные грибы (ЭГ) могут вызывать эпизоотии среди вредителей зерновых культур. С другой стороны ЭГ способны продуцировать различные метаболиты: токсины, антибиотики, репелленты, аттрактанты [Boucias, et al., 2012]. Последние могут влиять на поведенческие реакции насекомых в природе (Ormond et al., 2011; Yanagawa et al., 2009; 2012; Jacobsen et al., 2014). Их изучение имеет важное значение при разработке стратегии применения ЭГ против вредителей.

Целью работы было изучение поведенческих реакций амбарного (*Sitophilus granarius* L.) и рисового долгоносиков (*S. oryzae* L.) на летучие вещества ЭГ. Были выбраны типовые культуры грибов, широко используемые для получения биопрепаратов для защиты растений: *Lecanicillium muscarium* штамм VI 21, *Beauveria bassiana* штамм ВУ-06 и *Metarhizium anisopliae* штамм MaScr. Причем, штаммы ВУ-06 и MaScr характеризуются высокой патогенностью в отношении различных видов жуков.

Грибные культуры выращивались на агаризованной среде Чапека в течение 10 дней. Оценка аттрактивно-репеллентной активности летучих веществ ЭГ на жуков проводилась в ольфактометрах двойного выбора по методике успешно апробированной авторами [Selitskaya et al., 2014]. Процедура тестирования сводилась к следующему: в каждом ольфактометре в одну из пробирок помещали тест-образец (диск грибной культуры диаметром 1 см), в другую – контроль (диск питательной среды без культуры). В собранный ольфактометр выпускали по 10 жуков. Каждый вариант повторяли 12 раз. Через 1.5 часа подсчитывали жуков в каждой из пробирок.

Для оценки вектора ольфакторной реакции жуков для каждого варианта рассчитывали “индекс агрегирования (ИА)” [Закладной, 1983,] по следующей формуле: $ИА = (O - K / O + K) 100\%$, где O – количество насекомых в опытном варианте; K – количество насекомых в контрольном варианте. Положительный знак индекса – указывает на аттрактивное действие тестируемого образца, отрицательный – на репеллентное.

Дополнительно была проведена оценка патогенных свойств гриба *L. muscarium* в отношении *S. granarius*. Тестируемый штамм показал высокую патогенность в отношении сосущих насекомых и растительноядных клещей.

Модельный опыт проводили в стеклянных бюксах, в которые помещали зерно пшеницы массой 50 г. Имаго амбарного долгоносика заражали путем окунания в споровую суспензию препарата концентрацией 10^8 спор/мл и 10^7 спор/мл, в контроле – выдерживали в воде в течение

1 мин., после чего помещали на чистое зерно. Количество имаго жуков – 10 экз. на повторность. Каждый вариант выполнен в 4-х повторностях.

В настоящей работе выявлена способность летучих соединений ЭГ, вызывать у жуков различные поведенческие реакции. Тест-образец *L. muscarium* вызывал у амбарного долгоносика аттрактивность, а два других гриба – *B. bassiana* и *M. anisopliae* – репеллентные эффекты. Реакции рисового долгоносика в ответ на летучие вещества ЭГ грибов были сходными по вектору привлечения, однако, достоверность результатов подтверждена только при тестировании амбарного долгоносика (рис.).

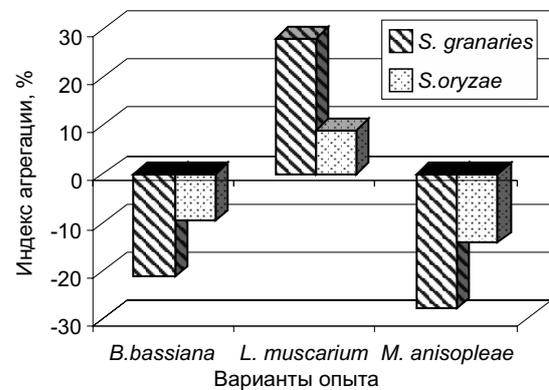


Рисунок. Поведенческая реакция амбарного и рисового долгоносиков на энтомопатогенные грибы

Известно, что репеллентный эффект ЭГ проявляется чаще, чем аттрактивный и может быть связан с высокопатогенными для конкретных насекомых видами грибов, к которым относятся *B. bassiana* и *M. anisopliae*. С другой стороны, *L. muscarium* не является природным патогеном Coleoptera. В его мицелии выявлены вещества, обладающие аттрактивными свойствами для западного цветочного трипса [Митина и др., 2003], которые могут проявлять аттрактивность и для других вредителей, в частности для амбарного долгоносика.

В результате теста на патогенность установлено, что *L. muscarium* способен заражать имаго амбарного долгоносика в лабораторных условиях. Смертность насекомых на 28 сутки составила, соответственно, 60% и 32.5% при концентрации спор гриба 10^8 и 10^7 спор/мл. Было отмечено развитие гриба на кутикуле насекомых после помещения мертвых жуков во влажную камеру. Полученные результаты необходимо учитывать при разработке способов применения энтомопатогенных грибов против вредителей запасов.

Библиографический список (References):

- Закладной Г. А. Защита зерна и продуктов его переработки от вредителей. М.: Колос, 1983. 215 с.
- Митина Г. В., Селицкая О.Г., Черменская Т.Д. Аттрактивные свойства фосфолипидов энтомопатогенного гриба *Lecanicillium lecanii* в отношении калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) // Агрохимия. 2003. N 4. С. 69–73.
- Boucias, D. G., Lietze V., Teal P. Chemical Signals that Mediate Insect- Fungal Interactions. In Biocommunication of Fungi. Witzany G. (ed.). Springer. 2012. P. 305–336.
- Selitskaya O.G., Gavrilova O.P., Schenikova A.V., Shamshev I.V., Gagkaeva T.Yu. The effect of toxin-produced *Fusarium* fungi on behavior of the rice weevil (Coleoptera, Dryophthoridae) // Entomological review. 2014. Vol. 94. N. 6. P. 820–825.
- Jacobsen S., Eilenberg J., Klingens I., Sigsgaard L. Different behavioral responses in specialist and generalist natural enemy interactions (predators and fungi) in a strawberry-mite pest system. 2014. P.60.

Yanagawa A, Fujiwara-Tsujii N, Akino T, Yoshimura T, Yanagawa T, et al. Odor Aversion and Pathogen-Removal Efficiency in Grooming Behavior of the Termite *Coptotermes formosanus*. 2012. PLoS ONE 7(10): e47412.

Ormond E.L., Thomas A.P.M., Pell J.K., Freeman S.N., Roy H.E. Avoidance of a generalist entomopathogenic fungus by the ladybird, *Coccinella septempunctata* // FEMS Microbiol. Ecol. 2011. N 77. P. 229–237.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 150–152

EFFECT OF VOLATILES FROM THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI ON THE BEHAVIORAL RESPONSES OF THE STOCK PESTS

O.G. Selitskaya, G.V. Mitina, A.V. Schenikova, A.A. Chogloкова, M.V. Levchenko

All-Russian Institute of Plant Protection, oselitskaya@mail.ru

It was studied the behavioral responses of two species of weevils – stock pests to volatiles from entomopathogenic fungi. We found that *B. bassiana* and *M. anisoplaea* repelled granary weevils, and *L. muscarium* attracted it. Rice weevil exhibited a neutral response to volatiles from fungi, but the vector of attraction was similar with that for grain weevil. *L. muscarium* had low virulence against granary weevils: mortality of adults was 60% in 28 days after infection at the concentration 10^8 spores / ml.

УДК 573.6.086.83

ИОНЫ ТЯЖЁЛЫХ МЕТАЛЛОВ *IN VITRO*: НОВЫЕ ИДЕОЛОГИИ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЁННЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ

Л.Е. Сергеева, Л.И. Бронникова

Киев, Украина, Zlenko_lora@ukr.net

Генетические изменения организма являются причиной проявления его особых свойств. При этом изменения могут затрагивать весь организм либо отдельно взятый участок метаболизма. Для получения генетически изменённых форм растений была предложена концепция использования ионов тяжёлых металлов в клеточной селекции. Целью настоящей работы было создание селективных систем, содержащих летальные дозы ионов Ba^{2+} , Cd^{2+} , WO_4^{2-} , VO_3^- , для отбора устойчивых клеточных линий. Катионы Ba^{2+} и Cd^{2+} использовали для выделения форм с повышенным уровнем устойчивости к осмотическим стрессам; анионы WO_4^{2-} , VO_3^- добавляли с целью получения вариантов со стрессоустойчивым полным циклом метаболизма азота. Методом клеточной селекции получены растущие культуры табака, сои, пшеницы. Частота отбора вариантов соответствовала 10^{-6} . Устойчивые к выбранным катионам линии развивались в условиях прямого действия засоления или водного стресса. Устойчивые к вольфрамату или ванадату линии при культивировании в стрессовых условиях увеличивали биомассу за счёт метаболизма нитратов. Клеточная селекция с ионами тяжёлых металлов обеспечивает отбор вариантов с различными генетическими изменениями. Метод может быть использован для манипуляций с клеточными культурами других видов растений.

Ключевые слова: клеточная селекция; стрессоустойчивость; катионы Ba^{2+} , Cd^{2+} ; анионы WO_4^{2-} , VO_3^-

Растения могут адаптировать свою программу развития соответственно окружающим условиям. При этом организмы с повышенным уровнем устойчивости должны иметь особый уровень взаимосвязей, координирующих различные типы реакций на стресс. Очевидно, что в основе реализации этого феномена лежат генетические причины. Выделение и изучение генетически изменённых вариантов может предоставить фундаментальную информацию о жизнедеятельности организма, а также существенно обогатит видовое разнообразие природного фонда.

Для получения форм растений с повышенным уровнем стрессоустойчивости успешно используют новые биотехнологические подходы. Однако наряду с безусловными достижениями существуют (и всегда будут существовать) проблемные вопросы, требующие постоянного внимания, а нередко – новых идеологий для решения проблемы.

Система *in vitro* является комплексным фактором, влияющим на генетическую программу растений. Получение клеточных культур (дедифференциация) из различных частей растения, манипуляции с ними могут служить базисом для последующего отбора вариантов с качественно новыми показателями.

Адекватным методом получения форм с изменёнными характеристиками является клеточная селекция. Были получены ауксотрофные мутанты, суперпродуценты некоторых веществ, стрессоустойчивые клеточные линии [Maliga, 1984]. Как правило, при отборе используют одно селективное соединение (фактор). Однако недостаточное давление создаёт предпосылки для появления культур-адаптантов, регенеранты из которых не имеют желаемой характеристики.

Абиотические стрессы провоцируют комплекс взаимосвязанных реакций, протекающих одновременно или поочередно. Поэтому для первичной селекции целесообразно задействовать агент, оказывающий как общее патологическое давление, так и специфическое воздействие. Если стрессовый фактор отличается высокой токсичностью в относительно малых количествах и вызывает существенные нарушения в клетке, клеточная селекция может стать приоритетным методом получения новых форм растений. Этому условию отвечают ионы тяжёлых металлов (ИТМ), токсичные в следовых количествах, которые считаются физиологически бесполезными. При этом ИТМ могут воздействовать как в форме катионов, так и анионов [Nies, 1999].

Нами была предложена гипотеза использования ИТМ в клеточной селекции для отбора форм с комплексной устойчивостью. Для установления корректности и системности подхода использовали катионы (Ba^{2+} , Cd^{2+}) и анионы (VO_3^- , WO_4^{2-}). Если ион Cd^{2+} всесторонне изучается, то Ba^{2+} малоисследован; к анионам VO_3^- , WO_4^{2-} проявляют интерес в исключительных случаях. Ионы в клеточной селекции прежде не использовали.

Катионы Ba^{2+} , Cd^{2+} применяли для отбора клеточных культур с повышенным уровнем устойчивости к осмотическим стрессам. Установлено, что Ba^{2+} влияет на перемещение ионов K^+ . Поскольку одним из главных отрицательных аспектов солевого стресса является критическая потеря K^+ , то Ba^{2+} использовали при селекции солеустойчивых вариантов. Cd^{2+} воздействует на водный статус, поэтому с его участием выделяли варианты, устойчивые к водному стрессу. На селективных средах, содержащих летальные для клеточных культур дозы ионов Ba^{2+} и Cd^{2+} , были получены клеточные линии табака, сои, пшеницы.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 152–153

Отобранные культуры росли в присутствии летального засоления (соли морской воды) либо водного стресса (маннит).

Анионы VO_3^- , WO_4^{2-} были выбраны, исходя из их воздействия на нитратредуктазу, НР (К.Ф. 1.6.6.1) [Львов, 1989]. НР – это кодируемый ядерными генами гомодимер, катализирующий восстановление нитратов в нитриты. Анионы VO_3^- , WO_4^{2-} ингибируют НР, однако механизмы репрессии различны. Используя предложенную методику, на селективных средах получены растущие клеточные линии. Увеличение биомассы в присутствии ингибиторов происходило за счёт усвоения нитратов как единственной формы азота.

Частота отбора устойчивых вариантов не превышала 10^{-6} , что свидетельствует в пользу генетических изменений. Желаемый показатель сохранялся у устойчивых линий при произвольной смене условий выращивания. Метод может быть использован для манипуляций с клеточными культурами других видов растений.

HEAVY METAL IONS IN VITRO: NEW IDEAS FOR OBTAINING GENETICALLY CHANGED PLANT FORMS

L.E. Sergeeva, L.I. Bronnikova

Zlenko_lora@ukr.net

The organism peculiar features depend on genetic changes. Such changes can involve entire organism or separate chain of the metabolism. There was proposed the idea of using the cell selection with heavy metal ions for obtaining genetically changed plant forms. The creation of selective systems with lethal doses of Ba^{2+} , Cd^{2+} , WO_4^{2-} , VO_3^- ions was the object of the investigation. Ba^{2+} and Cd^{2+} cations were drawn for obtaining forms with high level tolerance to osmotic stresses. WO_4^{2-} and VO_3^- oxyanions were added for obtaining variants with stable nitrogen metabolism under anion pressure. The resistant cell cultivars of tobacco, soybean, wheat were collected via cell selection. The appearance quantity was 10^{-6} . Ba^{2+} -resistant and Cd^{2+} -resistant lines challenged salinity and water stress. The biomass accumulation of WO_4^{2-} and VO_3^- -resistant lines cultivated under stress conditions was the result of the nitrate metabolism. Cell selection with heavy metal ions ensure the obtaining genetically changed variants. The method can be used for manipulation with other plant cell cultivars.

УДК 632.939

ВЛИЯНИЕ АГОНИСТА АБК – ПИРАБАКТИНА – НА РОСТ, ПРОДУКТИВНОСТЬ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ И ГОРОХА

Ю.В. Сеницына¹, А.В. Якунина¹, Е.К. Крутова², В.С. Сухов¹, А.П. Веселов¹

¹Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, ibbt@unn.ru, jsin@inbox.ru

²Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, Нижний Новгород, Россия

Цель работы – исследование влияния пирабактина на характеристики роста, продуктивности и устойчивости растений пшеницы и гороха в условиях нормального полива и засухи. Обработку растений проводили на стадии семян и ювенильных растений. Диапазон исследованных концентраций пирабактина: 10^{-7} М – 10^{-5} М. Обработка семян вызывала нежелательные эффекты: снижение лабораторной всхожести семян и хозяйственно-значимой урожайности. Опрыскивание посевов повышало сохранность растений пшеницы и гороха перед уборкой и их хозяйственно-значимую урожайность на 20–30%. В условиях нормального полива пирабактин индуцировал увеличение длины корней и пшеницы, и гороха, особенно в низких концентрациях. Предваряющая засуху обработка растений пирабактином позволила уменьшить негативные реакции, а в ряде случаев стимулировала развитие адаптивных изменений, повысивших устойчивости растений к засухе. Вероятно, пирабактин участвует в регуляции продуктивности растений через повышение их адаптивного потенциала.

Ключевые слова: фитогормон, засуха, адаптация растений, морфологические изменения, урожайность.

Пирабактин – синтетический агонист абсцизовой кислоты, который, взаимодействуя с белком PYR1 рецепторов АБК, способен запускать в клетке растений развитие неко-

торых из АБК-опосредованных реакций [Park et al., 2009]. Абсцизовая кислота – это важнейший регулятор засухоустойчивости растений, однако ее применение в сельском

хозяйстве нерентабельно и бессмысленно из-за высокой стоимости и светочувствительности. Синтезированный несколько лет назад пирабактин до настоящего времени использовался только для лабораторных исследований механизмов АБК-опосредованных сигнальных путей в растительных клетках [Melcher et al., 2010].

Целью работы явилось исследование влияния пирабактина на характеристики роста, продуктивности и устойчивости растений пшеницы и гороха в условиях нормального полива и засухи. В полевых исследованиях обработка растений проводилась на стадии семян и посевов (20–30-дневных растений) растворами пирабактина в концентрациях в диапазоне от 10^{-7} М до 10^{-5} М. Контролем служили растения, обработанные эквивалентным количеством воды. Эффекты пирабактина на фоне засухи исследовали в вегетационных опытах, обработку растений в этом случае проводили только путем опрыскивания посевов.

Показано, что биологические эффекты пирабактина в полевых исследованиях были схожими у обеих культур, их проявление наиболее значимо зависело от способа обработки. Замачивание семян растений в растворах пирабактина подавляло их лабораторную всхожесть и энергию прорастания на 10–30%. Обработка семян путем распыления растворов пирабактина (с последующим высушиванием до воздушно-сухого состояния), напротив, стимулировала полевую всхожесть как гороха, так и пшеницы, но приводила к существенному снижению сохранности растений перед уборкой урожая, что явилось причиной некоторого снижения хозяйственно-значимой урожайности обработанных растений. Наилучший эффект было показано при опрыскивании посевов в ювенильной стадии развития, такая обработка позволила в целом повысить сохранность растений пшеницы и гороха перед уборкой и хозяйственно-значимую урожайность на 20–30% по сравнению с контролем. В условиях нормального полива пирабактин индуцировал увеличение длины корней и

пшеницы, и гороха, причем больший эффект проявился при использовании более низких концентраций данного соединения, размер листьев пшеницы практически не изменялся, однако длина и ширина листьев гороха уменьшалась. Засуха вызвала ожидаемые изменения морфологии растений: уменьшение длины и количества побегов, размеров листьев, некоторое увеличение корневой системы, особенно у растений пшеницы. Предваряющая засуху обработка растений пирабактином позволила уменьшить негативные изменения, а в ряде случаев стимулировала развитие адаптивных изменений. Так, обработка пшеницы привела к увеличению количества продуктивных стеблей в 1.5 раза, удлинению корней почти в 2 раза по сравнению с аналогичными вариантами полива. Предобработка растений пшеницы раствором пирабактина в концентрации 10^{-7} М в условиях засухи привела к увеличению длины (на 50%) и ширины (на 40%) листовой пластинки прикорневого листа. Длина стебля гороха под действием раствора пирабактина в концентрации 10^{-6} М увеличилась по сравнению с контролем на 30%. Для растений гороха и пшеницы, обработанных перед засухой пирабактином, была характерна меньшая интенсивность транспирации, что проявилось в сохранении более высоких показателей влажности почвы в вегетационных сосудах по сравнению с необработанными фитогормонами растениями.

В целом, сравнение биометрических показателей растений, выросших на фоне полива и испытывавших воздействие засухи, показывает, что применение пирабактина может значительно ослабить влияние неблагоприятного фактора на состояние агроценоза. В отличие от обработки семян, опрыскивание посевов растворами фитогормонов имело однозначно положительный эффект. Пирабактин участвует в регуляции продуктивности растений через повышение их адаптивного потенциала.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00098).

Библиографический список (References)

Park S.-Y., Fung P., Nishimura N., Jensen D., Fujii H., Zhao Y., Lumba S., Santiago J., Rodrigues A., Chow T., Alfred S., Bonetta D., Finkelstein R., Provart N., Desveaux D., Rodriguez P., McCourt P., Zhu J.-K., Schroeder J., Volkman B., Cutler S. Abscisic Acid Inhibits Type 2C Protein Phosphatases via the PYR/PYL Family of START Proteins // *Science*, 2009. V. 324. P.1068–1071.

Melcher K., Xu Y., Ng L.-M., Zhou X., Soon F.-F., Chinnusamy V., Suino-Powell K., Kovach A., Tham F., Cutler S., Li J., Yong E.-L., Zhu J.-K., Eric H. Identification and mechanism of ABA receptor antagonism // *Nature Structural & Molecular Biology*. 2010. V. 17. P. 1102–1108.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 153–154

EFFECT OF ABA-AGONIST PIRABACTIN ON GROWTH, PRODUCTIVITY AND SUSTAINABILITY OF PEA AND WHEAT PLANTS

Yu.V. Sinitsyna¹, A.V. Yakunina¹, E.K. Krutova², V.S. Sukhov¹, A.P. Veselov¹

¹*Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, ibbm@unn.ru, jsin@inbox.ru*

²*Nizhny Novgorod State Agricultural Academy*

Effect of pyrabactin on pea and wheat growth, productivity in conditions of normal watering and artificial drought was studied. Seeds and juvenile plants were treated. Pirabactin was used in concentrations from 10^{-7} М to 10^{-5} М. If seeds were treated unwanted effects were induced: germination and productivity were decreased. Spraying of seedlings increased plants safety before harvesting and productivity on 20–30%. In normal watering conditions root elongation of pea and wheat plants was occurred. Treatment of plants by pirabactin before drought allowed to reduce some negative reactions and furthermore stimulated plant adaptation and resistance to drought. Probably, pirabactin is involved to plant productivity regulation through the adaptation potential increasing.

УДК 579.26

ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗОЛЯТА *METARHIZIUM* SP. MBB**С.В. Сокорнова¹, О.Н. Ярославцева², А.В. Александрова³, Г.Р. Леднёв¹, Б.А. Борисов^{4,5}**¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, тутрык@gmail.com²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия⁴Производственно-научная компания «АгроБиоТехнология», Москва, Россия⁵Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

По морфолого-культуральным признакам изолят *Metarhizium sp* MBB не мог быть однозначно отнесен к какому-либо виду. Сравнение нуклеотидных последовательностей фактора элонгации трансляции и гена бета-тубулина изолята *Metarhizium sp* MBB с референсными последовательностями Генбанка показало сходство 98% с последовательностями штамма *M. pemphigi*. Наиболее близкородственными изолятами по локусу гена бета-тубулин (99.8% сходства на участке 608 н.п.) были *Metarhizium sp* CBS 64867, Hkd35-2 и F1099-1, чье пространственное распространение ограничивается лесными экотипами, что характерно для *M. pemphigi*. Таким образом, изолят идентифицирован, как *M. pemphigi*, что подтверждается морфологическими и экологическими критериями.

Ключевые слова: *Metarhizium*, энтомопатогенные микромицеты, идентификация, экологические критерии.

Энтомопатогенные сумчатые анаморфные грибы рода *Metarhizium* (Ascomycota: Hymenochytriales: Clavicipitaceae) издавна, начиная с пионерских исследований Мечникова и Красильщика, изучают во многих странах как потенциальных агентов биологического контроля насекомых [Faria, Wraight, 2007]. Исследования, проведенные в последние десятилетия на основе современных молекулярно-генетических методов, с привлечением множества штаммов из различных насекомых-хозяев и природно-климатических зон мира, убедительно показывают, что за прежними видовыми названиями в действительности скрываются комплексы трудно различимых по морфолого-культуральным признакам близкородственных видов, имеющих порой определенную трофическую и топическую специализацию. Так, дроблению на несколько самостоятельных видов подвергся типовой вид *M. anisopliae* (Metsch.) Sorokin 1883; а также *M. flavoviride* W.Gams et Rozsypal 1973 [Driver et al., 2000; Bishoff et al., 2009; Kepler et al., 2014; Steinwender et al., 2014]. Поэтому в настоящее время «классические» названия можно использовать лишь в первом приближении в смысле «*sensu lato*».

В 2014 г. при изучении почвенной лесной микобиоты Государственного природного заказника «Звенигородская

биостанция МГУ и карьер Сима» (Московская обл., Одинцовский район) в рассевах одного из образцов на агаризированную питательную среду Чапека в чашках Петри выросли единичные колонии зеленоватого цвета; этот изолят по морфолого-культуральным характеристикам был идентифицирован как *M. anisopliae* s. l. Он был передан для изучения биотехнологических свойств (особенностей развития на различных субстратах при твердофазном и глубинном культивировании при разных температурах и др.) в Коллекцию микроорганизмов – потенциальных продуцентов биопестицидов ООО «АгроБиоТехнология», где культуре было присвоено название S-MR(Z)14, а затем – в Коллекцию чистых культур лаборатории фитотоксикологии и биотехнологии ВИЗР; где изолят получил акроним МББ.

На агаризированной питательной среде Сабуро изолят образовывал светло-зеленые слабо порошачие колонии с конидиями овальной формы размером в среднем 5.5×2.5 мкм, по которым гриб можно отнести также к виду *M. pemphigi* Kepler, S.A. Rehner et Humber (Driver et R.J. Milner) (раннее *M. flavoviride* var. *pemphigum* Driver et Milner [Driver et al., 2000]) [Kepler et al., 2014].

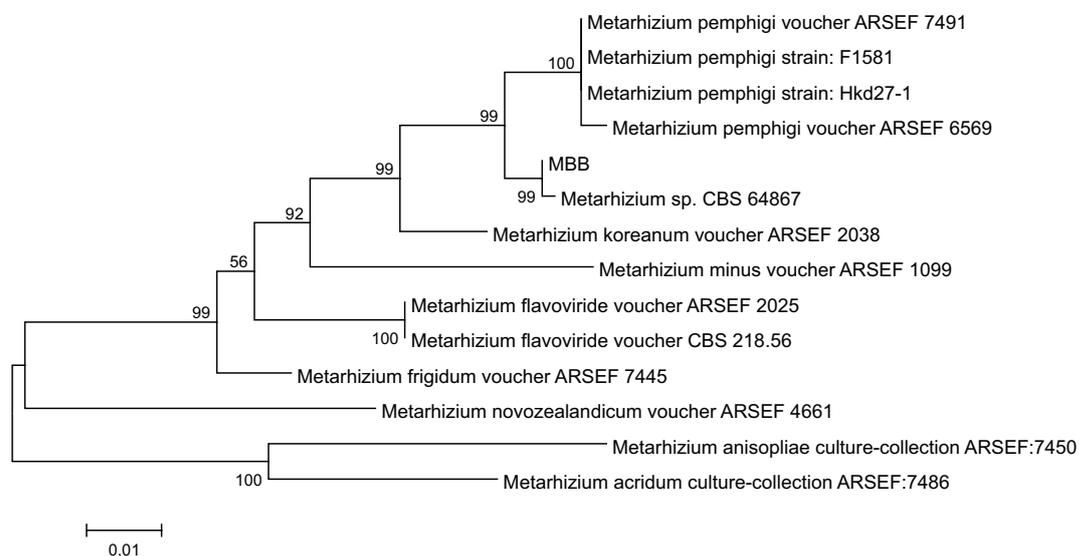


Рисунок. Филогенетическое положение исследуемого изолята МББ *Metarhizium sp*. Филограмма построена по локусу гена бета-тубулин (600 н.п.) методом максимального правдоподобия с бутстрап поддержкой

Интересно отметить, что штаммы, идентифицированные по локусу гена фактора элонгации трансляции [Nishi et al., 2011], как *M. pemphigi* (= *M. flavoviride* var. *pemphigi*) оказались одинакового происхождения, все они были выделены из почв лесных экосистем [Rocha et al., 2013]. Кроме того, их конидии способны к прорастанию при пониженных температурах (+10 °C) [Nishi et al., 2013]. По результатам молекулярного анализа локусов генов фактора элонгации трансляции и бета-тубулина длиной 678 и 608 н.п., а также референсным последовательностям из базы данных Генбанка методом ближайших соседей было построено филогенетическое дерево, одно из которых представлено на рисунке.

Максимальное сходство последовательностей по указанным локусам наблюдается, действительно, со штаммами *M. pemphigi* (= *M. flavoviride* var. *pemphigi*) и составляет более 98%. Следовательно, изолят *Metarhizium* sp MBB может быть отнесен к этому виду. В базе данных Генбанк также представлены 4 последовательности гена бета-тубулина изолятов *Metarhizium* sp. CBS 64867, Hkd35-2 и F1099-1, имеющие сходство с полученной последовательностью 99.8%. Важно отметить происхождение этих изолятов – они были выявлены в лесных почвах. Таким образом, идентификация изолята, как *M. pemphigi*, подтверждается также экологическими критериями.

Работа частично выполнена на базе ресурсного центра Хромас СПбГУ.

Библиографический список (References)

- Bishoff J.F., Rehner S.A., Humber R.A. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage // *Mycologia*, 2009. V.101. N 4. P. 512–530.
- Driver F., Milner R.J., Trueman J.W.H. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data // *Mycol. Res.*, 2000. V. 104. N 2. P. 134–150.
- Faria M.R.de, Wraight S.P. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types // *Biol. Control.*, 2007. V. 43. P.237–256.
- Kepler R.M., Humber R.A., Rehner S.A. Clarification of generic and species boundaries for *Metarhizium* and related fungi through multigene phylogenetics // *Mycologia*, 2014. V. 106. N 4. P. 811–829.
- Nishi O., Hasegawa K., Iiyama K., Yasunaga-Aoki C., Shimizu S. Phylogenetic analysis of *Metarhizium* spp. isolated from soil in Japan // *Appl. Entomol. Zool.*, 2011. V. 46. P. 301–309.
- Nishi O., Iiyama K., Yasunaga-Aoki C., Shimizu S. Comparison of the germination rates of *Metarhizium* spp. conidia from Japan at high and low temperatures // *Lett. Appl. Microbiol.*, 2013. V. 57 N 6. P.554–60.
- Rocha L.F.N., Inglis P.W., Humber R.A., Kipnis A., Luz Ch. Occurrence of *Metarhizium* spp. in Central Brazilian soils // *J. Basic Microbiol.*, 2013. V. 53. P.251–259.
- Steinwender B.M., Enkerli J., Widmer F., Eilenberg J., Thorup-Kristensen K., Meyling N.V. Molecular diversity of the entomopathogenic fungal *Metarhizium* community within an agroecosystem // *J. Invertebr. Pathol.*, 2014. V.123. P.6–12.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 155–156

ECOLOGY-GENETIC CHARACTERISTICS OF *METARHIZIUM* SP. ISOLATE MMB

S.V. Sokornova¹, O.N. Yaroslavtseva², A.V. Aleksandrova³, G.R. Lednev¹, B.A. Borisov^{4,5}

¹All-Russian Institute of Plant Protection, *mymryk@gmail.com*

²Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS

³Lomonosov Moscow State University

⁴AgroBioTechnology Ltd

⁵Center of Parasitology, Severtsov Institute of Ecology and Evolution

Morphology and cultural characteristics it is not well suited for individual isolate identification of *Metarhizium* sp MBB. Phylogenetic analyses of the beta-tubulin and translation elongation factor-1 alpha sequences revealed that these isolate are closely related to *M. pemphigi*, that confirmed by morphology and environmental criteria.

УДК 631.524.86:582.952.6:633.854.78

МАРКЕРЫ ГЕНОВ *PL*, *OR*, *AHAS1* ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ЛОЖНОЙ МУЧНИСТОЙ РОСЕ, ЗАРАЗИХЕ И ГЕРБИЦИДАМ

А.Е. Солоденко, Б.Ф. Вареник

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения,
Одесса, Украина, *angelika_solo@yahoo.com*

Работа посвящена разработке системы ДНК-маркеров для использования в генетико-селекционных программах подсолнечника, направленных на создание генотипов, устойчивых к ложной мучнистой росе, заразихе и гербицидам имидозолиновой и сульфонилмочевинной групп.

Ключевые слова: микросателлиты, маркерный отбор, *P. halstedii*, *O. cumana*, гибриды подсолнечника.

Актуальность. Маркерный отбор (marker assisted selection, MAS) базируется на выявлении маркеров генов хозяйственно-ценных признаков и последующем их применении на определенных этапах селекции. Подсолнечник – одна из наиболее рентабельных культур в Украине. При создании и регистрации гибридов подсолнечника обязательным условием является наличие устойчивости

к наиболее вредоносным патогенам – ложной мучнистой росе (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & de Toni) и заразихе (*Orobancha cumana* L.). Устойчивость к разным расам *P. halstedii* и *O. cumana* контролируют гены *Pl* и *Or* [Tang S., 2003; Jovic et al., 2012]. Реализация потенциальной продуктивности гибридов подсолнечника возможна только, если гибриды обладают ею наряду с генетически обусловлен-

ной устойчивостью к высокоэффективным гербицидам. Устойчивость к наиболее используемым гербицидам имидазолиновой и сульфонилмочевинной групп обусловлена мутациями в генах, которые кодируют ферменты синтеза аминокислотных цепей АНАС [Kolkman et al., 2004].

Цель исследования – разработка системы ДНК-маркеров для использования в генетико-селекционных программах подсолнечника, направленных на создание генотипов, устойчивых к ложной мучнистой росе, заразице и гербицидам имидазолиновой и сульфонилмочевинной групп.

Материал и методы. В качестве материала использовали линии-дифференциаторы, которые составляют международный стандарт для идентификации патотипов и оценки устойчивости подсолнечника к разным расам *P. halstedii* и *O. cumana*; линии, полученные из National Germplasm Resources Laboratory (North Central Regional PI Station, North Dakota, USA); линии одесской селекции. ДНК из листьев растений подсолнечника выделяли цетавлоновым методом. Амплифицированные в ходе полимеразной цепной реакции фрагменты ДНК фракционировали в 10% полиакриламидных гелях с последующей визуализацией азотнокислым серебром.

Результаты. Для поиска ДНК-маркеров генов устойчивости к *P. halstedii* и *O. cumana* исследовали молекулярно-генетический полиморфизм микросателлитных локусов, сцепленных с кластерами генов *Pl* и *Or*, а также микросателлитной последовательности, которая находится в пределах гена *AHASI*. Исследование микросателлитного локуса *ORS328*, сцепленного с кластером генов *P11/P12/P16/P17*, позволило выявить аллель, характерный для линии HA-335, в генотипе которой присутствует ген *P16*. Показано, что один из аллелей локуса *ORS781* является специфичным для генотипа QHP 1 – линии-носителя гена *P18*. Определены маркерные аллели в микросателлитных локусах *ORS1008* и *ORS965-1*, которые фланкируют ген *P113*.

Предложено использование выявленных маркеров для идентификации образцов, которые несут донорский генетический материал, из гибридных популяций и беккросов. Наибольший интерес, с точки зрения использования при отборе устойчивых к ложной мучнистой росе генотипов, представляют маркеры гена *Pl_{ARG}*, который обеспечивает иммунитет подсолнечника по отношению ко всем известным на сегодня патотипам *P. halstedii*. Среди 18 микросателлитов, картированных на генетическом расстоянии не более 10 сМ от гена *Pl_{ARG}* выявлены пять маркерных, которые позволяют идентифицировать указанный ген.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов 3-й группы сцепления генетической карты подсолнечника позволил выявить ДНК-маркеры, которые дифференцируют образцы подсолнечника, контрастные по устойчивости к заразице рас А-Е. Наиболее эффективный для тестирования генетически детерминированной устойчивости – микросателлитный маркер *ORS1036*, сцепленный с кластером генов *Or1-Or5*.

Амплификация фрагмента гена *AHASI*, который содержит микросателлитный повтор, позволила выявить три аллеля и дифференцировать линии, обладающие устойчивостью к страховым гербицидам сульфонилмочевинной и имидазолиновой групп.

Область применения. Селекционно-генетические программы создания гибридов подсолнечника.

Выводы. Микросателлитные маркеры являются наиболее оптимальными для MAS-селекции в связи с методической доступностью способов их выявления, надёжностью и воспроизводимостью, кодоминантным типом наследования. Использование выявленных маркеров генов *Pl*, *Or*, *AHASI* позволит путём маркерной селекции ускорить целевой отбор образцов в процессе создания устойчивых к ложной мучнистой росе, заразице и гербицидам гибридов подсолнечника.

Библиографический список (References)

Jocic S., Miladinovic D., Imerovski I., Dimitrijevic A., Cvejic S., Nagl N., Kondic-Spirka A. Towards sustainable downy mildew resistance in sunflower // *Helia*, 2012. V. 35. N 56. p. 61–72.
Kolkman J., Slabaugh M., Bruniard J., Berry S., Bushman B., Olungu C., Maes N., Abratti G., Zambelli A., Miller J., Leon A., Knapp S. Acetohydroxyacid

synthase mutations conferring resistance to imidazolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower // *Theor. Appl. Genet.*, 2004. V.109. p. 1147–1159.
Tang S., Heesacker A., Kishore V.K., Fernandez A., Sadik E.S., Cole G., Knapp S. J. Genetic mapping of the *Or 5* gene for resistance to *Orobanche* race E in sunflower // *Crop Science*, 2003. V. 43. p. 1021–1028.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 156–157

MARKERS OF THE *PL*, *OR*, *AHASI* GENES FOR SUNFLOWER BREEDING FOR RESISTANCE TO DOWNY MILDEW, BROOMRAPE AND HERBICIDES

A.E. Solodenko, B.F. Varenik

Plant Breeding and Genetics Institute of NAAS of Ukraine, angelika_solo@yahoo.com

Marker assisted selection in modern plant breeding based on the results of the molecular genetic studies. Sunflower is one of the most profitable crops in Ukraine. Sunflower hybrids have to provide resistance to the most harmful pathogens – downy mildew (*Plasmopara halstedii* (Farl.) Berl. & De Toni) and broomrape (*Orobanche cumana* L.). For realization of the potential productivity the sunflower hybrids have to possess a genetically determined resistance to a highly effective herbicide. The aim of our work – the development of DNA markers for using in sunflower genetic and breeding programs aimed at creating the genotypes resistant to downy mildew, broomrape and sulfonylurea and imidazolinone herbicides. To search for DNA markers genes for resistance to *P. halstedii* and *O. cumana* it was investigated molecular genetic polymorphism in the microsatellite loci linked with clusters of genes *Pl* and *Or*, and in the simple sequence repeat in *AHASI* gene. It was provided the microsatellite marker alleles that specific for donor genotypes of *P16* gene (HA-335) and *P18* gene (QHP 1). It was defined marker alleles in microsatellites *ORS1008* and *ORS965-1*, which flank the gene *P113*. It was revealed five markers that allow identification of the gene *Pl_{ARG}* that provides the immunity against all currently known pathotypes of *P. halstedii*. Microsatellite *ORS1036* was defined as marker to cluster of genes *Or*. Some microsatellite markers were proposed to differentiate the lines with resistance to imidazolinone and sulfonylurea herbicides. Revealed markers of genes *Pl*, *Or*, *AHASI* would allow marker assisted selection in breeding programs aimed on the creating resistant to downy mildew, broomrape and herbicides sunflower hybrids.

УДК 595.768.12:579.26

РОЛЬ СИМБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ И КОЛОРАДСКОГО ЖУКА ВО ВЗАИМОДЕЙСТВИИ РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА И ФИТОФАГА

А.В. Сорокань, Г.В. Беньковская, Д.К. Благова, Т.И. Максимова, И.В. Максимов

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, fourtyanns@googletail.com

Цель данной работы – выявить возможные взаимодействия эндосимбионтов картофеля и колорадского жука в системе «растение-фитофаг». Метод. После кормления колорадского жука пробирочными растениями картофеля, обработанными штаммами бактерий рода *Bacillus*, учтены смертность, состав микрофлоры жука, оценено влияние на рост его эндосимбионтов *in vitro*. Результаты. Показано, что поедание растений, обработанных эндосимбиотическими микроорганизмами, увеличивает смертность колорадского жука. При этом изменяется число КОЕ симбионтов родов *Acinetobacter* ssp и *Enterobacter* ssp в кишечнике. *B. subtilis* 26Д так же ингибирует рост колоний эндосимбионтов колорадского жука *in vitro*. Область применения. Разработка пестицидов на основе бактериальных штаммов. Выводы. Ряд штаммов *Bacillus* способствует увеличению смертности колорадского жука, нарушая формирование и состав его нормальной микрофлоры.

Ключевые слова: *Bacillus*, *Acinetobacter* ssp., *Enterobacter* ssp., КОЕ.

Микросимбионты принимают активное участие в процессах адаптации к неблагоприятным условиям окружающей среды и в развитии иммунитета организмов-хозяев [Pora et al., 2012]. Так, в растениях эндофиты вовлечены в развитие индуцированной системной устойчивости, против ряда патогенов и вредителей [Pieterse et al., 2014]. С другой стороны, наличие бактериальных эндосимбионтов у вредителей предполагает их участие в адаптации к окружающей среде, в том числе – к факторам, обусловленным защитными реакциями растений-хозяев на поедание [Janson et al., 2008]. Исследование роли микросимбионтов, ассоциированных либо с растением-хозяином, либо с насекомым-фитофагом, в эффективном функционировании защитной системы растений, может стать ключом к раз-

работке биопрепаратов нового поколения, позволяющих снизить пестицидную нагрузку на агроэкосистемы.

Для кормления жука использовались *B. subtilis* 26Д, *B. thuringiensis* B-5351 и рекомбинант *B. subtilis* 1.4, несущий ген инсектотоксичного белка, выделенный из этого штамма. Смертность фиксировали через 7 сут после кормления, количество колониеобразующих единиц (КОЕ) симбионтов – через 24 часа. Антагонистическую активность бактерий исследовали методом перпендикулярных штрихов.

Было выявлено, что суспензия *B. subtilis* 26 Д увеличивала смертность личинок колорадского жука более чем в два раза, однако поедание заселенных эндофитом растений снижало этот показатель до 10%. Следует отметить, что штамм *B. subtilis* 1.4 обладал таким же инсектицидным эффектом, как *B. thuringiensis* B-5351.

Таблица. Влияние суспензий препаратов на основе бактерий рода *Bacillus* на смертность и число КОЕ бактерий кишечника имаго и личинок III возраста колорадского жука.

	Смертность в %, 7 суток после питания		<i>Acinetobacter</i> ssp., клеток*1000/особь		<i>Enterobacter</i> ssp., клеток*1000/особь	
	личинки	имаго	имаго	личинки	имаго	личинки
контроль	15.5 ± 4.02	12.5±2.3	133	5	20.6	47
<i>B. subtilis</i> 26Д	46.3 ± 7.5*	50	0	5	8	320
<i>B. thuringiensis</i> B-5351	80.0 ± 4.6**	н/д	0	0	35	470
<i>B. subtilis</i> 1.4	76.7 ± 3.35**	н/д	20	0	14.6	580

Как видно, изученные штаммы *Bacillus* снижали число КОЕ *Acinetobacter* ssp. у имаго и личинок, а так же количество КОЕ *Enterobacter* ssp у имаго. Обращает на себя внимание, что в норме в кишечнике взрослой особи содержится на порядок больше клеток *Acinetobacter* ssp., чем *Enterobacter* ssp., а у личинок общее количество эндосимбиотических бактерий меньше, и соотношение идет в пользу *Enterobacter* ssp. При этом исследуемые штаммы эндофитных бактерий способствуют 10-ти кратному увеличению содержания *Enterobacter* ssp и полностью ингибируют размножение *Acinetobacter* ssp, нарушая тем самым формирование микрофлоры, характерной для имаго.

Обнаружено, что *in vitro* бактерия *B. subtilis* 26Д подавляет рост колоний эндосимбионтов колорадского жука, при этом *Acinetobacter* ssp. и *Enterobacter* ssp. не оказывали подобного действия на колонии данного штамма (рис.).

Таким образом, нарушение баланса между разными видами эндосимбионтов становится одним из вероятных

механизмов снижения численности колорадского жука на картофеле, заселенном патогенными штаммами микроорганизмов.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ по Соглашению № 14.604.21.0016, уникальный идентификатор ПНИ -RFMEFI60414X0016.

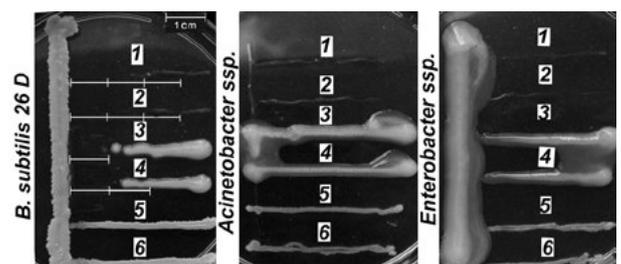


Рисунок. Влияние *B. subtilis* 26Д (5,6) на рост колоний эндосимбионтов колорадского жука *Acinetobacter* ssp (1,2) и *Enterobacter* ssp (3,4)

Библиографический список (References)

Janson E. M., Stireman J. O., Singer M. S., Abbot P. Phytophagous insect-microbe mutualism and adaptive evolutionary diversification // *Evolution*, 2008. V.62 N 5 P. 997–1012.
Pieterse C.M.J., Zamioudis C., Berendsen R. L., Weller D. M., Van Wees S. C.M., Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes//*Ann. Rev. of Phytopathol.*, 2014 V. 52. P.347–375.

Popa V., Deziel E., Lavalle, R. Bauce E. Guertin C. The complex symbiotic relationships of bark beetles with microorganisms: a potential practical approach for biological control in forestry // *Pest Manag Sci.*, 2012. V.68 P.963–975.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 158–159

ROLE OF SYMBIOTIC BACTERIA OF POTATO AND COLORADO POTATO BEETLE IN HOST-PHYTOPHAGE INTERACTION

A.V. Sorokan, G.V. Benkovskaya, D.K. Blagova, T.I. Maksimova., I.V. Maksimov
Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, fortyyanns@googlemail.com

The aim. Identification of possible interactions of endosymbionts of potato and Colorado potato beetle in in the system «plant – phytophagous.» Method After feeding Colorado potato beetle with tube potato plants treated with strains of bacteria of the genus *Bacillus* mortality, the composition of beetle microflora and *Bacillus* impact on the growth of its endosymbionts in vitro were estimated. Results. Eating plants treated endophytic microorganisms decreases the survival of Colorado potato beetles and the number of colony-forming units symbionts *Acinetobacter ssp* and *Enterobacter ssp* in the intestine. *B. subtilis* 26D inhibits the growth of colonies of endosymbionts in vitro. Application area. Development of pesticides based on bacterial strains. Conclusions. Several bacterial strains of the genus *Bacillus* increases the mortality of the Colorado potato beetle, disrupting the formation and composition of the microflora.

УДК 632.937

АНИСОВЫЙ АЛЬДЕГИД КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ АТТРАКТАНТ ДЛЯ ЭНТОМОФАГОВ

Е.А. Степанычева, М.О. Петрова, Т.Д. Черменская

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, stepanycheva@yandex.ru

В работе представлена оценка реакции энтомофагов на анисовый альдегид в полевых условиях. Эксперименты проводились в двух различных биоценозах с использованием клеевых ловушек. Вещество наносили непосредственно на клеевую поверхность. Учеты и анализ собранного материала проводили один раз в неделю. Проведенные наблюдения в лесопарковом биоценозе показали достоверную аттрактивность анисового альдегида для представителей *Chrysopidae* (златоглазки), а также хищных *Syrphidae* и микро-Нуменоптера. На картофельном поле отмечена аналогичная реакция для *Chrysopidae* и *Syrphidae*. Количество отловленных насекомых на ловушках с анисовым альдегидом было в 3 раза выше, чем в контроле. Полученные результаты дают основание считать, что использование аналогов растительных летучих веществ обеспечивает положительную реакцию энтомофагов и может способствовать мобилизации природных ресурсов полезных членистоногих.

Ключевые слова: насекомые, привлечение, клеевые ловушки, биоценоз, картофель, парк.

Основой экологической защиты урожая являются природные энтомофаги, роль которых в снижении численности или сдерживании темпов размножения фитофагов трудно переоценить. Но на практике достаточно редко встает вопрос о том, что можно сделать, чтобы они заселяли те или иные сельскохозяйственные или природные ценозы и сдерживали популяции вредителей на уровне ниже экономического порога численности.

Одним из факторов, влияющим на эффективность полезных членистоногих, является активность их поисковой способности. Первоначально энтомофаги находят среду обитания хозяина или жертвы, а затем переходят к поиску самих жертв и хозяев. На этих этапах активно работает их ольфакторная реакция на различные летучие органические соединения – продукты жизнедеятельности растений или фитофагов. Как показали результаты исследований, использование синтетических аналогов таких соединений позволяет влиять на пространственное распределение представителей полезной энтомофауны. Возможными аттрактантами для полезных членистоногих могут являться альдегиды, входящие в состав летучих органических со-

единений некоторых древесно-кустарниковых и травянистых растений и участвующие в эколого-биохимических взаимодействиях растений с другими организмами [Рощина, Рощина, 1989; Stepanycheva et al., 2014].

Цель работы – оценить реакцию природных энтомофагов на анисовый альдегид, как одного из летучих вторичных метаболитов растений.

Эксперименты проводили в 2-х биоценозах, существенно отличающихся друг от друга. Первый – территория ГМЗ «Царское Село», участок со смешанной древесно-кустарниковой растительностью, второй – участок поля с картофелем, листья которого в Северо-западном регионе повреждает только колорадский жук. Для отлова насекомых использовали белые листовые клеевые ловушки (10x15 см), содержащие анисовый альдегид в количестве 500 мкл/ловушку. Ловушки закрепляли на стволах деревьев в виде поясов, а в поле – на кольях в вертикальном положении на уровне верхушек растений картофеля. Определение систематической принадлежности насекомых и подсчет их количества осуществляли еженедельно.

Наблюдения, проводимые в условиях садово-паркового хозяйства с конца июня до конца августа, позволили установить attractive влияние анисового альдегида на представителей Chrysopidae, хищных Syrphidae и микро-Нуменоптера (различия достоверны при $P \leq 0.05$).

На участке с картофелем отмечена аналогичная реакция для Chrysopidae ($F = 6.19$, $P = 0.014$) и Syrphidae ($F = 4.38$, $P = 0.039$). Их количество на ловушках с анисовым альдегидом было в 3 раза выше, чем на контрольных.

Для колорадского жука в нашем регионе практически отсутствуют специализированные энтомофаги. Поэтому привлечение на анисовый альдегид хищных представителей семейств Chrysopidae и Syrphidae, являющихся потенциальными энтомофагами колорадского жука, и активно

работающие в качестве элемента биометода в других зонах, представляет интерес [Гусев, 1991].

Сопоставление данных о реакции некоторых этомофагов на анисовый альдегид в различных биоценозах подтверждает факт attractiveness вещества для представителей Chrysopidae, Syrphidae, а в некоторых случаях и для микро-Нуменоптера.

Полученные нами результаты подтверждают, что использование синтетических аналогов растительных летучих веществ в качестве ольфакторных стимулов, обеспечивающих привлечение энтомофагов, может способствовать мобилизации природных ресурсов полезных членистоногих и занимать достойное место среди комплекса мероприятий интегрированной защиты растений в различных ценозах.

Таблица. Сравнительная attractiveness анисового альдегида для энтомофагов

Объекты	Лесопарковая зона				Картофельное поле			
	АА	Контроль	F	P	АА	Контроль	F	P
Chrysopidae	3.73 ± 1.02	0.04 ± 0.04	10.86243	0.002	0.6 ± 0.15	0.2 ± 0.07	6.19347	0.01451
Syrphidae	2.6 ± 0.67	0.5 ± 0.5	11.18606	0.00172	0.44 ± 0.13	0.14 ± 0.07	4.38021	0.03894
микро-Нуменоптера	1.3 ± 0.50	0.0	5.21672	0.02749	5.6 ± 0.48	6.5 ± 0.69	1.12744	0.29104

Библиографический список (References)

- Гусев Г.В. Энтомофаги колорадского жука. М.: Агропромиздат, 1991. 173 с.
- Рощина В.Д., Рощина В.В. Выделительная функция высших растений. М.: Наука, 1989. 214 с.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 159–160
- Stepanycheva E.A., Petrova M.O., Chermenskaya T.D., Shamshev I.V., Pazyuk I.M. The Behavioral Response of the Predatory Bug *Orius laevigatus* Fieber (Heteroptera, Anthocoridae) to Synthetic Volatiles // Entomological Review, 2014. V. 94. N 8. P. 1053–1058.

ANISALDEHYDE AS A POTENTIAL ATTRACTANT FOR ENTOMOPHAGES

E.A. Stepanycheva, M.O. Petrova, T.D. Chermenskaya

All-Russian Institute of Plant Protection, stepanycheva@yandex.ru

The paper presents an assessment of the reaction of entomophages to anisaldehyde in the field. Experiments were conducted in two different biocenosis with sticky traps. The substance is applied directly to the adhesive surface. Recording and analysis of the collected materials is carried out once a week. The observations in the forest biocenosis showed reliable attractiveness anisaldehyde for representatives of Chrysopidae (lacewing), as well as predatory Syrphidae and micro-Hymenoptera. In a potato field marked by a similar reaction to Chrysopidae and Syrphidae. The number of insects caught in the traps with anisaldehyde was 3 times higher than in controls. The results give reason to believe that the use of analogues of plant volatiles provides a positive reaction entomophages and can facilitate the mobilization of natural resources beneficial arthropods.

УДК 579.64

ПЕРСПЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГРИБА *TRICHODERMA VIRENS* ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА АДАПТИРУЕМЫХ МИКРОРАСТЕНИЙ КЛЮКВЫ КРУПНОПЛОДНОЙ

И.В. Стручкова, А.В. Юрлова, А.А. Брилкина, Е.В. Березина

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия, struchkova65@inbox.ru

В работе исследована возможность ускорения роста и развития микроклонально размноженных растений клюквы на этапе *ex vitro* с помощью гриба *Trichoderma virens* ВКМ F-1117. Растения клюквы крупноплодной *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. сортов Ховес и Стивенс выращивали *in vitro* на питательной среде Андерсона 2 месяца. Микромицет культивировали на среде Чапека-Докса 5 дней. Растения пересаживали в почву, содержащую (опыт) и не содержащую (контроль) культуру гриба. Через 5 и 10 месяцев определяли сырую и сухую биомассу, длину и количество побегов. Установлено, что инокуляция грибом *T. virens* увеличивала все перечисленные показатели. Эффект сильнее проявлялся после 10 месяцев сокультивирования и был более выражен для сорта Ховес. Способность *T. virens* ускорять

рост микрорастений клюквы на этапе их адаптации к почвенному субстрату представляет интерес для производства посадочного материала этой культуры.

Ключевые слова: растения семейства *Ericaceae*, клональное микроразмножение, *ex vitro*, микромицет.

В процессе клонального микроразмножения ценных в пищевом и декоративном плане представителей сем. *Вересковых* (*Ericaceae* Juss.) важной задачей является повышение приживаемости растений на этапе *ex vitro* (адаптации к почвенному субстрату). Для грибов р. *Trichoderma* известно немало представителей, повышающих адаптивные возможности незерикоидных растений [Hermosa et al., 2012]. В отношении сем. *Ericaceae* для микромицетов р. *Trichoderma* также установлены положительные воздействия (улучшение всхожести семян, стимуляция роста и развития растений) [Paal, 2000; Arriagada et al., 2012], однако в целом, сведения о возможности применения грибов этого рода в биотехнологии вересковых практически отсутствуют. В связи с вышесказанным, целью нашей работы являлось исследование возможности повышения приживаемости клюквы крупноплодной *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. сортов Стивенс и Ховес на этапе *ex vitro* с помощью микромицета *T. virens* ВКМ F-1117.

Двухмесячные растения *O. macrocarpus* сортов Стивенс и Ховес, полученные при микроразмножении на питательной среде Андерсона, высаживали в емкости со слоем стерильного торфяного грунта толщиной 5–6 см. Для грибной инокуляции использовали пятидневную культуру *T. virens* ВКМ F-1117, выращенную на агаризованной питательной среде Чапека-Докса. В каждую емкость с растениями в опытном варианте вносили на глубину 1.5 см по 3 пробки питательной среды (D = 5 мм) с развившимся на ней грибным мицелием. В контрольном варианте вносили пробки стерильной среды. Растения культивировали

при фотопериоде 16 ч день / 8 ч ночь под светодиодными светильниками с преобладанием лучей красного и синего диапазона и постепенно адаптировали к условиям пониженной влажности воздуха. Спустя 5 и 10 месяцев культивирования определяли сухую и сырую биомассу листьев, стеблей и корней растений, а также длину стеблей и количество побегов.

Установлено положительное воздействие инокуляции грибом *T. virens* на исследуемые показатели, однако степень выраженности эффекта зависела от времени сокультивирования, органа, а также сорта растений. После 5 месяцев сокультивирования с грибом у клюквы сорта Ховес по сравнению с контролем возросла как сырая, так и сухая биомасса листьев. Для сорта Стивенс увеличилась лишь сырая биомасса, однако эти изменения наблюдались не только для листьев, но и для корней. Через 10 месяцев выращивания в присутствии *T. virens* увеличение биомассы (как сырой, так и сухой) было зафиксировано для листьев, стеблей и корней обоих сортов. Эти изменения были более выражены у растений сорта Ховес. Для клюквы данного сорта также увеличивалось суммарная длина и количество побегов.

Таким образом, гриб *T. virens* ВКМ F-1117 стимулирует рост побегов и наращивание общей биомассы у микрорастений клюквы крупноплодной сортов Ховес и Стивенс на этапе *ex vitro*. Обнаруженный эффект может быть полезен для стимуляции роста растений клюквы, полученных методом клонального микроразмножения, при адаптации к почвенному субстрату.

Библиографический список (References)

Arriagada C., Manquel D., Comejo P., Soto J., Sampedro I., Ocampo J. Effects of the co-inoculation with saprobe and mycorrhizal fungi on *Vaccinium corymbosum* growth and some soil enzymatic activities // *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2012. V. 12. N 2. P. 283–294.

Hermosa R., Viterbo A., Chet I., Monte E. Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes // *Microbiology*, 2012. V. 158. P. 17–25.

Paal T., Banner A. *Trichoderma viride* enhances the growth of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) stem cuttings // *Canadian Journal of Plant Science*, 2003. V. 83. N 4. P. 943–945.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 160–161

PROSPECTS OF USING *TRICHODERMA VIRENS* FUNGUS IN ORDER TO STIMULATE GROWTH OF AMERICAN CRANBERRY MICROSHOOTS DURING ADAPTATION

I.V. Struchkova, A.V. Yurlova, A.A. Brilkina, E.V. Berezina

Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, struchkova65@inbox.ru

It was studied possibility of cranberry plants enhanced growth and development in *ex vitro* conditions using *Trichoderma virens* VKM F-1117 fungus. *Oxycoccus macrocarpus* (Ait.) Pers. (cv. Howes and Stevens) plants were cultivated on Anderson's nutritional medium for 2 months. Microfungus was cultivated on Czapek-Dox medium for 5 days. Plants were set in pots with soil contained (experimental group) or not (control group) fungal culture. After 5 and 10 months plants fresh and dry weight, shoot length and number were estimated. It was shown that *T. virens* inoculation increased all the parameters. The effect was more noticeable after 10-months co-cultivation especially for cv. Howes. *T. virens* capacity to enhance cranberry microplants growth during their adaptation to soil is a subject of interest for cranberry planting stock production.

УДК 632.914

МОНИТОРИНГ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА К ИНСЕКТИЦИДАМ В МОДЕЛЬНЫХ АГРОЦЕНОЗАХ КАРТОФЕЛЯ

Л.А. Сыртланова, К.А. Китаев, Г.В. Беньковская

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, slian4ik@mail.ru

Цель исследования: сравнение динамики развития резистентности колорадского жука к ряду химических инсектицидов в модельных агроценозах картофеля, отличающихся интенсивностью агротехнических мероприятий. Методы: Токсикологический анализ изменений чувствительности к инсектицидам из 5 химических классов (ФОС,

пиретроиды, неоникотиноиды, фенилпиразолы, нереистоксин) на репрезентативных выборках перезимовавших имаго колорадского жука из локальных популяций Бирского (ОПХ Башкирского НИИ РАСХН) и Буздякского (частные посадки) районов Республики Башкортостан (РБ). Результаты. Получены данные о динамике показателей резистентности: доли устойчивых имаго, показатели резистентности (ПР) и индексы токсичности (ИТ) за последние годы (2007–2015). Область применения. Результаты могут быть использованы для усовершенствования систем мониторинга резистентности и методов защиты картофеля. Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о формировании множественной резистентности ко всему спектру применяемых инсектицидов. Необходим ежегодный мониторинг развития резистентности для подбора эффективных средств контроля численности вредителя.

Ключевые слова. Фосфорорганические инсектициды (ФОС); пиретроиды; неоникотиноиды; фенилпиразолы; нереистоксин; индекс токсичности инсектицида (ИТ); показатель резистентности (ПР); множественная резистентность.

В настоящее время колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say остается важнейшим вредителем картофеля и в Республике Башкортостан. Численность личинок вида независимо от агротехники в модельных агроценозах на плантациях Бирского ОПХ и на частных посадках в Буздякском районе по данным последних лет не снизилась до порога экономической вредности, что предполагает обязательное использование химических инсектицидов для защиты урожая картофеля. Для зоны интеграции вида в экосистему мониторинг состояния популяций имеет особое значение [Вилкова и др., 2005].

Токсикологический анализ чувствительности выборок перезимовавших имаго колорадского жука (минимальный объем выборки с участка 200 особей) проводили на протяжении 2007–2015 гг. Инсектициды: Актеллик (ФОС, д.в. – пиримифос-метил), Децис (пиретроид, д.в. – дельтаметрин), Актара (неоникотиноид, д.в. – тиаметоксам), Регент (фенилпиразол, д.в. – фипронил) и Банкол (нереистоксин, д.в. – бенсултап) (использованы в диагностических концентрациях по принятым методикам с применением топикального (1 мкл/особь) и кишечного-контактного (для бенсултапа) методов обработки [Сухорученко и др., 2006] с учетом выживших на 3-и и 10-е сутки особей.

Динамика доли устойчивых имаго в локальных популяциях (табл. 1) свидетельствует о существенных различиях между локальными популяциями, которые могут быть об-

условлены как различиями в интенсивности применения инсектицидов, влиянием климатических факторов, так и сложной структурой популяций [Сурина и др., 2013; Китаев и др., 2016]. Однако тенденция к снижению доли устойчивых к ФОС и пиретроидам особей еще очень слаба, о чем говорят данные по динамике показателей уровня резистентности (табл. 2). Значения индекса токсичности для всех инсектицидов, кроме фипронила, превышают критическое значение (1.0), что позволяет сделать следующие выводы: 1) на всей территории РБ отмечено формирование множественной резистентности к 4м классам инсектицидов и существует риск быстрого развития резистентности к наиболее эффективному соединению – фипронилу; 2) для успешного контроля численности вредителя необходима обоснованная ротация инсектицидов, базирующаяся на данных систематического мониторинга чувствительности /устойчивости.

Таблица 2. Динамика уровня резистентности имаго колорадского жука на территории Республики Башкортостан

Препарат	СК 50, % д.в. 2007 г.	СК 50. % д.в. 2013 г.	ПР
Актеллик	0.06 ± 0.003	0.171000	2.85
Децис	0.0022 ± 0.0004	0.044349±0.036192	20.159
Актара	0.000142 ± 0.000013	0.00103±0.000302	7.25
Регент	0.00011 ± 0.00004	0.000098±0.00001	0.9
Банкол	0.0032± 0.0002	0.020569±0.0015	6.42

Таблица 1. Доли устойчивых перезимовавших имаго в исследованных локальных популяциях Бирского (1) и Буздякского (2) районов

Год	Пиримифос-метил		Дельтаметрин		Тиаметоксам		Фипронил		Бенсултап	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
2007	0.95	1	0.5	0.6	0	0	0	0	0.3	0
2008	0.85	0.9	0.1	0.4	0.145	0.25	0	0	0.1	0.6
2013	0.05	0.5	0.03	0.2	0.05	0.1	0.2	0.3	0.3	-
2014	0.75	0.75	0.65	0.575	0.225	0.05	0.05	0	0.65	0.6
2015	0.95	0.75	0.8	0.55	0.85	0.4	0.63	0	0.75	0.1

Библиографический список (References)

- Вилкова Н.А., Сухорученко Г.И., Фасулати С.Р. Стратегия защиты сельскохозяйственных растений от адвентивных видов насекомых – фитофагов на примере колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae)) // Вестник защиты растений. СПб.: ВИЗР, ИЦЗР, 2005. N 1. С. 3–15.
- Китаев К.А., Марданшин И.С., Сурина Е.В., Леонтьева Т.Л., Удалов М.Б., Беньковская Г.В. Моделирование генетических процессов формирования резистентности к фипронилу в популяциях колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata* Say) // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2016. Т.20 (1): 000-000 DOI 10.18699/VJ15.112
- Сурина Е.В., Удалов М.Б., Беньковская Г.В. Популяционно-генетические аспекты восприимчивости колорадского жука к микозам на территории Республики Башкортостан // Экология. 2013. N 3. С. 204–209.
- Сухорученко Г.И., Долженко В.И., Гончаров Н.Р. и др. Технология и методы оценки побочных эффектов от пестицидов (на примере преодоления резистентности колорадского жука к инсектицидам) СПб.: ВИЗР РАСХН, 2006. 52 с.

MONITORING OF COLORADO POTATO BEETLE RESISTANCE TO INSECTICIDES IN MODEL POTATO AGROECOSYSTEMS

L.A. Syrtlanova, K.A. Kitaev, G.V. Benkovskaya

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, slian4ik@mail.ru

The aim of the research: comparison the dynamics of resistance development in Colorado potato beetle populations to the chemical insecticides (2007–2015) in two model potato agroecosystems. Methods: used overwintered adults from the local populations differ in resistance status of the different agro-climatic zones of the Southern Urals (in the plantations of potato experimental farm from Birska and private plantings from Buzdyak District) of the Republic of Bashkortostan (RB). The minimum size of the sample from the site amounted to 200 individuals. The toxicological analysis was applied. Results: obtained data of resistance dynamics: the share of resistant adults, resistance indices and indices of toxicity in the local population. Application area: The results can be used to improve monitoring systems of resistance and methods to protect potatoes. Conclusions: The results indicate the formation of multiple resistance to the range of the applied insecticides. Annual monitoring of development of resistance required for the selection of effective tools of pest control.

УДК 633.854.78:631.523

ВЫЯВЛЕНИЕ ДОНОРОВ ПЕРЕДАЧИ ПРИЗНАКА ВЫСОКОЙ МИЛДЬЮУСТОЙЧИВОСТИ КРАСНЫМ ТЕХНИЧЕСКИМ СЕЯНЦАМ ВИНОГРАДА

И.Н. Сьян, Р.В. Кологривая, Н.О. Арестова

Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия имени Я.И. Потанина, Новочеркасск, Россия, ruswineavandex.ru

Цель работы – создать богатый генетическими возможностями гибридный фонд красных технических сеянцев, выявить источники и доноры передачи биологически и хозяйственно ценных признаков, выделить элитные сеянцы и перспективные формы – кандидаты в сорта, отвечающие требованиям модели сорта. В каждой популяции оценка степени поражения милдью и оидиумом проведена на 30 растениях по пятибалльной шкале [Талаш, 2008]. Методом гибридологического анализа [Голодрига, Трошин 1978, Панахов и др., 2010] 10 популяций выявлено донорское влияние сорта Шатен и гибридной формы Фемина на проявление в гибридном потомстве повышенной устойчивости к милдью. Выявление источников и доноров передачи хозяйственно ценных признаков является одним из важнейших этапов селекционной работы, позволяющее целенаправленно производить подбор родительских пар, что, в свою очередь, способствуют повышению эффективности процесса создания сортов с заданными параметрами. Сорт Шатен и гибридная форма Фемина рекомендуются для использования в селекции на милдьюустойчивость.

Ключевые слова: комбинации скрещивания, гибридологический анализ, процент поврежденных растений.

В гибридном питомнике не проводятся химобработки от грибных болезней с целью создания инфекционного фона и последующего отбора наиболее устойчивых сеянцев, а также выявления доноров, обеспечивающих высокую устойчивость. В последние три года развитие милдью и оидиума было заторможено сухой и жаркой погодой. На этом фоне только в семьях Талисман × Фиалковый и Талисман × Августа наблюдалось значительное (30 и 20% соответственно) количество растений с развитым спороношением (3 балла) и значительным поражением листовой пластинки (4–5 балла 55–56% сеянцев). В семьях Фемина × Августа, Фемина × Фант, Рубра × Шатен, Шатен × Восточный наоборот – выявлено небольшое количество сеянцев (4–17%) с поражением милдью от 4 до 5 баллов и преобладающее большинство (65–75%) с небольшой (1–2 балла) степенью поражения (табл. 1). Гибридологический анализ популяций указывают на донорское влияние сорта Шатен и гибридной формы Фемина на проявление в гибридном потомстве повышенной устойчивости к этому заболеванию.

Как показал гибридологический анализ изучаемых популяций по степени проявления оидиума (табл. 2) подавляющее большинство сеянцев в изучаемых семьях имели небольшую степень поражения листа (1–2 балла).

Существенных различий между популяциями не выявлено. Только в семьях, полученных с использованием сорта Талисман, отмечено повышенное количество растений (26–32%) с поражением листа 3 балла, так как сорт Талисман значительно в большей степени поражается милдью (3.5 балла) и особенно (4 балла) оидиумом (рис.).

Таблица 1. Гибридологический анализ гибридных популяций по степени поражения милдью

№ п/п	Комбинация скрещивания	Количество сеянцев, шт	Процент растений с повреждениями, балл				
			до 1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
1	Красный × Веста	67	24	27	28	14	7
2	Груболитный × Магия	125	10	10	38	17	15
3	Талисман × Фиалковый	27	0	15	30	30	25
4	Талисман × Августа	33	9	15	20	32	24
5	Антей × Веста	111	16	24	28	22	10
6	Антей × Августа	40	11	26	26	22	15
7	Фемина × Августа	170	22	50	14	14	0
8	Фемина × Фант	34	20	46	18	11	5
9	Рубра × Шатен	50	21	44	18	11	6
10	Шатен × Восточный	33	24	51	21	4	0

Таблица 2. Гибридологический анализ популяций по степени поражения оидиумом

№ п/п	Комбинация скрещивания	Процент растений по баллам			
		до 1.0	2.0	3.0	4.0–5.0
1	Красный × Веста	43	39	18	0
2	Груболистный × Магия	42	48	10	0
3	Талисман × Фиалковый	44	30	26	0
4	Талисман × Августа	20	48	32	0
5	Антей × Веста	47	49	4	0
6	Антей × Августа	37	44	19	0
7	Фемина × Августа	41	59	0	0
8	Фемина × Фанг	48	45	7	0
9	Рубра × Шатен	41	55	4	0
10	Шатен × Восточный	42	50	8	0

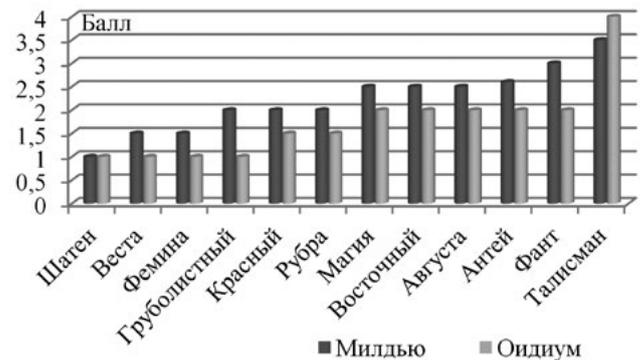


Рисунок. Степень поражения родительских сортов и форм мильдью и оидиумом

Библиографический список (References)

Голодрига П.Я. Биолого-техническая программа создания комплексно-устойчивых высокопродуктивных сортов винограда / П.Я. Голодрига, Л.П. Трошин //Тр. Всесоюзного симпозиума. Киев. 1978. С. 259–266
 Панахов Т.М. Гетерозис и наследование ценных биологических и технологических признаков сеянцами винограда в гибридных популяциях

/В.С. Салимов, А.М. Алиева, Х.Т. Абасова //Виноделие и виноградарство, 2010. N 2. С. 39–41.

Талаш А. И. Методика проведения испытаний средств защиты против «сезонных» возбудителей болезней на виноградниках в полевых условиях. Краснодар: СКЗНИИСиВ. 2008. 12с.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 163–164

IDENTIFICATION OF DONOR TRANSMISSION CHARACTERISTIC MILDEW HIGH STABILITY TECHNICAL RED SEEDLINGS GRAPE

I.N. Syan, R.V. Kologrivaya, N.O. Arestova

All-Russian Research Institute of Viticulture and Winemaking named after Ya.I. Potapenko, ruswine@yandex.ru

Purpose of research – to create a rich genetic features hybrid fund technical red seedlings, identify the sources and transfer donors of biologically and economically important traits, to allocate elite seedlings and promising form – candidates of varieties that meet the requirements of the variety model. The hybridological method of analysis 10 crossbreeding combinations identified donor influence grade Shaten and hybrid forms of Femina in hybrid progeny increased resistance to mildew. Identify sources and transfer donor economically important traits is one of the most important stages of the selection work, allowing purposefully make the selection of parental pairs that, in turn, enhance the effectiveness of the process of creating varieties with the specified parameters. Variety grape Shaten and hybrid form Femina recommended for use in breeding for resistance to downy mildew.

УДК635.21:632.93:631.879.3

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДОБАВЛЕНИЯ В СРЕДУ МУРАСИГЕ-СКУГА ИЗМЕЛЬЧЕННОГО ШУНГИТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МИКРОРАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ

Л.В. Тимейко, Л.А. Кузнецова

Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия, timeiko.lidi@yandex.ru

Представлены результаты исследований по изучению эффективности применения добываемого в Карелии минерала шунгита в качестве компонента питательной среды при выращивании меристемных пробирочных растений картофеля сортов Red Scarlet, Ранний желтый (ранняя группа спелости) и среднераннего сорта Юбилей Жукова. Установлено положительное влияние добавления в питательный раствор тонкоразмолотого шунгита на рост и облиственность пробирочных растений. Выявлено превышение показателей длины стебля опытных растений над контрольными по всем изучаемым сортам, особенно в начале наблюдений, когда прирост длины стебля составлял 127.2...138.4% от контроля. Наибольший прирост числа листьев отмечен у растений сортов Ранний желтый и Юбилей Жукова на 15-й день наблюдений, превышение составило 17.1 % относительно растений контрольного варианта. Применение шунгита в качестве компонента питательной среды перспективный прием, который может успешно использоваться при микроклональном размножении оздоровленных растений картофеля.

Ключевые слова: картофель, меристемные пробирочные растения, шунгит.

Одним из важнейших этапов выращивания сельскохозяйственной продукции является получение посадочного материала, эффективность производства которого во многом зависит от качества и стоимости семян. В настоящее

время наиболее перспективный метод производства семенного материала основан на применении технологии микроклонального размножения *in vitro*. Данный способ появился в 1957 г., когда американские исследователи

Скуг и Миллер разработали методы регенерации растений из каллусной ткани путём её обработки фитогормонами — ауксинами и цитокининами, что сделало возможным получение безвирусного посадочного материала сельскохозяйственных растений [Кузьмина, 2010].

Эффективность метода микроклонального размножения определяется качеством питательной среды, ведь именно она определяет количественный выход растений-регенерантов. Как правило, для культивирования таких растений используется питательная среда с прописью состава по Мурасиге-Скугу. С целью увеличения коэффициента размножения оздоровленного исходного материала, в лабораторных условиях создано много модификаций авторского состава среды, испытываются различные компоненты. В данной работе изучается эффективность применения добываемого в Карелии минерала шунгита в качестве компонента питательной среды.

Целью данной работы являлось изучение влияния отходов от комплексной переработки шунгита на ростовые процессы меристемных растений картофеля.

Материалом исследований служили пробирочные растения картофеля сортов Red Scarlet, Ранний желтый (ранняя группа спелости) и среднеранний сорт Юбилей Жукова, полученные методом апикальной меристемы. В Республике Карелия данные сорта зарекомендовали себя как перспективные и высокоурожайные. Работы по микрочеренкованию растений проводили в ламинар-боксе (lamsystems) в асептических условиях.

В течение 35 дней растения культивировали на модифицированной среде Мурасиге-Скуга с макроэлементами, витаминами, углеводами, фитогормонами с добавлением 8 г тонкоразмолотого порошкообразного шунгита на 1 л среды. Фотопериод 16 часов, температура воздуха +22...+23 °С.

Измерение длины стебля и учет числа листьев проводили каждые 7...10 дней.

Использование шунгита в качестве дополнительного компонента питательной среды оказало стимулирующее действие на ростовые показатели меристемных растений

картофеля. В динамике на протяжении учетного периода выявлено превышение показателей длины стебля опытных растений над контрольными по всем изучаемым сортам. Особенно заметны различия в начале наблюдений, когда прирост длины стебля в опытных вариантах составлял 127.2...138.4% от контроля. Максимальные показатели получены на 7-й день эксперимента у сорта Юбилей Жукова. В дальнейшем скорость роста несколько замедляется, но длина стебля опытных растений до завершения эксперимента превосходила контрольный вариант.

Число листьев, а следовательно и число будущих микрорастений, является важнейшим показателем количественного выхода при дальнейшем черенковании. При одинаковой длине стебля за счет формирования укороченных междоузлий можно добиться большего выхода регенерантов. Именно такой эффект выявлен при добавления шунгита в модифицированную питательную среду Мурасиге-Скуга. Наибольший прирост числа листьев отмечен на 15-й день наблюдений у растений сортов Ранний желтый и Юбилей Жукова, превышение составило 17.1% относительно растений контрольного варианта. На 30-й день эксперимента показатель числа листьев у растений, выращиваемых на среде с добавлением минерала, превышал контроль на 11.7%. Кроме того, по визуальной оценке опытные растения имели лучше сформированную корневую систему, насыщенную зеленую окраску и выглядели более мощными.

Таким образом, добавление измельченного шунгита в питательную среду Мурасиге-Скуга не зависимо от скоропелости изученных сортов положительно сказывается на росте и облиственности пробирочных растений. Можно предположить, что для ускоренного роста и эффективного развития пробирочных растений современных интенсивных сортов с большим урожайным потенциалом требуется повышенное содержание микроэлементов и других компонентов, содержащихся в шунгите. В дальнейшем можно прогнозировать получение из таких растений большего урожая элитных клубней.

Библиографический список (References)

Кузьмина Н. Микроклональное размножение и оздоровление растений [Электронный ресурс] // Биотехнология. 2010. Режим доступа: http://www.biotechnolog.ru/pcell/pcell6_1.htm (Дата обращения: 12.03.2016).

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 164–165

EFFICIENCY ADD TO THE GROWTH MEDIUM OF MURASHIGE-SKUGA CRUSHED SCHUNGITE IN THE CULTIVATION OF POTATO MICRO PLANTS

L.W. Timeiko, L.A. Kuznetsova

Petrozavodsk State University, timeiko.lidi@yandex.ru

Summary: results of researches on studying of efficiency of application extracted in Karelia shungit mineral as a component of the feeder growth medium while growing meristematic in vitro plants of potato varieties Red Scarlet, Zheltyj rannij (early maturity group) and middle-class Yubilej Zhukova. The positive impact of adding nutrient solution pulverized shungite on the growth and foliage of plants in vitro. Identified the excess lengths of the stem of experimental plants over control in all studied varieties, especially at the beginning of observation, when the increase of the length of the stem structure was 138.4...127.2% of the control. The greatest increase in the number of leaves was observed in plants of the varieties Zheltyj rannij and Yubilej Zhukova on the 15th day of observation, the increase amounted to 17.1% compared with plants of control variant. The use of shungite as a component of a nutritious community is a promising technique that can be successfully utilized for microclonal reproduction sanitized potato plants.

УДК 582.284: 631.95

МУЛЬТИБИОКОНВЕРСИЯ ОТХОДОВ ТЕХНОГЕННОЙ СФЕРЫ СЪЕДОБНЫМИ ГРИБАМИ

Ю.А. Титова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, juli1958@yandex.ru

Оценена эффективность мультимикробной конверсии в лабораторных и производственных условиях отходов техногенной сферы съедобными грибами, представителями ксилотрофов (*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler и *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. НК-35) и гумусовых сапротрофов (*Agaricus bisporus* (J.E.Lange) Imbach var. *albidus* (J.E.Lange) Sing X-22) по скорости линейного роста и начальным стадиям морфогенеза. Показано отсутствие достоверных отличий в скоростях роста и наступлении морфогенеза *P. ostreatus* НК-35 и *A. bisporus* var. *albidus* X-22 на мультимикробных субстратах, что делает возможным использование последних в би- и трикультуре съедобных макромицетов и для дальнейшей биоконверсии микромицетами и бактериями.

Ключевые слова: биоконверсия, отходы техногенной сферы, съедобные грибы, вешенка, шиитаке, шампиньон.

Начало XXI века характеризуется интенсивным ростом промышленного производства разных видов съедобных грибов [Дорожкина и др., 2000; Sánchez, 2004, 2010; Annenkov, Azarova, 2009]. Возможности круглогодичного выращивания с 5–7-ю оборотами культуры в год и урожайностью в 20–40% массы готового субстрата делают культивирование грибов одним из наиболее эффективных и быстрых способов утилизации отходов техногенной сферы [Титова, 1998; Chitamba et al., 2012]. Большая часть таких отходов содержит трудно разложимый лигноцеллюлозный комплекс, который не может быть использован непосредственно большинством микроорганизмов-редуцентов. Только древоразрушающие базидиальные макромицеты, широко культивируемые в настоящее время, способны разлагать лигноцеллюлозные субстраты вплоть до полной минерализации, обеспечивая возможность использования возобновляемых растительных ресурсов в различных биотехнологических процессах и способствуя увеличению сырьевой базы путем обогащения малоценных грубых растительных отходов грибным белком и легкоусвояемыми углеводами [Тищенко, 2005; Chukwurah et al., 2012; Čvančarová et al., 2012; Jafarpour, Eghbalsaeed, 2012; Sales-Campos et al., 2013]. Переработанный грибными ферментами субстрат, пронизанный мицелием, используется в качестве кормовых добавок, удобрений или для выращивания других съедобных грибов и микроорганизмов с различной целевой активностью [Бисько, Дудка, 1987; Дудка и др., 1992; Титова, 2013]. Цель настоящей работы – охарактеризовать мультимикробную конверсию отходов техногенной сферы съедобными грибами, представителями ксилотрофов и гумусовых сапротрофов. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи: оценить эффективность мультимикробной конверсии в лабораторных и производственных условиях макромицетами: *L. edodes* НК-35 и *A. bisporus* var. *albidus* X-22 по скорости линейного роста и начальным стадиям морфогенеза.

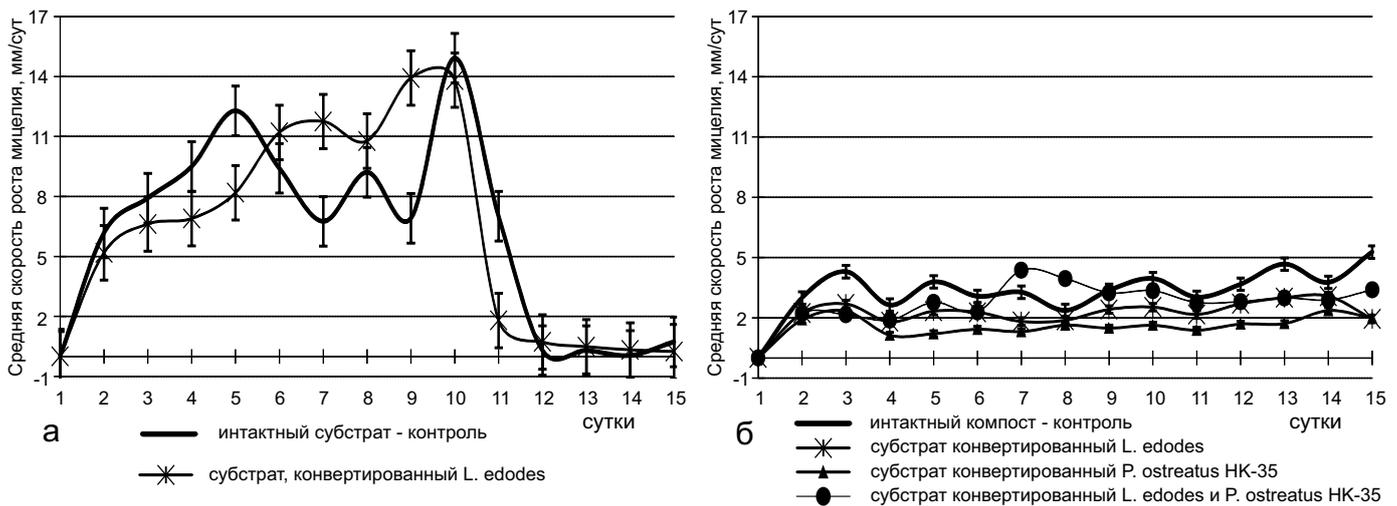
Работу проводили на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ВИЗР. Материалами исследований были предоставлены ЗАО «Приневское» и ООО «Дигрис» субстраты для промышленного культивирования съедобных макромицетов на основе отходов техногенной сферы (деревообрабатывающей промышленности и сельского хозяйства), а также отработанные после снятия урожая базидиом конверсионные субстраты. Для получения и хранения чистых культур макромицетов, для лабораторных опытов *in vitro* использовали агаризо-

ванные и жидкие питательные среды, полусинтетические и синтетические селективные [Методы..., 1982]: среда Чапека; агаризованные среды на основе экстрактов картофеля, зерна злаков и грибов. Приготовление субстратов и мелкообъемное лабораторное и полупромышленное культивирование в чашках Петри; стеклянных банках (250 мл, 500 мл); полипропиленовых пакетах (1 л) осуществляли по Бисько и др. [1987]. Стерилизацию субстратных смесей проводили при 133 °С в течение 1 часа с охлаждением до 25–28 °С для инокуляции чистой культурой сортов макромицетов, инкубирование осуществляли при 24–26 °С до полного обрастания субстрата. Инокулят макромицетов поддерживали на зерновом и грибном агаре, зерне злаков и использовали для инокуляции в стерильных условиях отходов техногенной сферы. Эффективность мультимикробной конверсии макромицетами оценивали по скорости линейного роста (мм/сутки) и времени наступления переходной стадии [Титова и др., 2002]. В качестве контроля использовали субстраты для промышленного культивирования съедобных макромицетов. Для статистической оценки результатов опытов были применены расчеты производных, среднеквадратичных отклонений, стандартных ошибок и *t*-критерия Стьюдента (Microsoft Excel 2010, Statistica 6).

Динамика средней скорости роста мицелия *P. ostreatus* НК-35 на вторично конвертируемом после *L. edodes* субстрате сходна с таковой в контроле при первичной биоконверсии интактного субстрата: максимальные скорости роста мицелия в обоих случаях в пределах ошибки измерений, фиксировали на 10-е сутки роста макромицета (рис. 1а). Анализ данных, представленных на рисунке 1а и в таблице 1, свидетельствует о высокой эффективности мультимикробной конверсии *P. ostreatus* НК-35 отходов производства *L. edodes*.

Средняя скорость роста мицелия вместе с контрольными значениями находятся в пределах стандартных ошибок опыта, а количество генеративных образований (примордиев и базидиом) достоверно выше такового в контроле при росте на интактных субстратах (табл.). Последнее объясняется более быстрым наступлением переходной стадии в развитии на субстрате, конвертированном *L. edodes* (коэффициент изменения периода наступления переходной стадии – 0.87).

Наблюдали очень сходную динамику развития культивируемого шампиньона на мультимикробных субстратах и в контроле на компосте. Практически совпадают во времени максимумы скоростей роста мицелия:

Рис.1. Динамика средней скорости роста мицелиев (а) *P. ostreatus* НК-35 и (б) *A. bisporus* X-22 на мультиконверсионных субстратахТаблица. Эффективность биоконверсии субстратов с помощью *P. ostreatus* НК-35 и *A. bisporus* X-22

Показатели эффективности биоконверсии субстратов	Этап биоконверсии/конвертант					
	1 этап (интактный субстрат/компост)		2 этап (субстрат конвертированный)			3 этап (субстрат конвертированный) <i>L. edodes</i> и <i>P. ostreatus</i> НК-35 <i>A. bisporus</i> X-22
	<i>P. ostreatus</i> НК-35	<i>A. bisporus</i> X-22	<i>P. ostreatus</i> НК-35	<i>A. bisporus</i> X-22	<i>L. edodes</i>	
Средняя скорость роста мицелия, мм/сут	6.09	3.34	1.54	6.13	2.19	2.74
Стандартная ошибка	1.24	0.31	0.15	1.36	0.19	0.26
t-Критерий	-	-	-5.26**	0.02	-3.19**	-1.49
Коэффициент изменения периода наступления переходной стадии	1.00	1.00	1.41	0.87	1.21	1.04
Количество генеративных образований (примордии/базидиомы), шт.	45.31/1.45	-	-	146.52/1.87	-	-
t-Критерий	-	-	8.13**	4.14*/3.01*	7.28**	1.13

Примечание: * – достоверность для 0.05 уровня; ** – достоверность для 0.09 уровня значимости.

2–3-и, 9–10-е и 13–14-е сутки. По интегральным значениям площади под кривой средней скорости роста мицелия шампиньона наиболее близки контрольная и мультиконверсионная после шиитаке и вешенки кривые. Причем в случае третичной биоконверсии *A. bisporus* X-22 субстратов, последовательно конвертированных *L. edodes* и *P. ostreatus* НК-35, замедления роста, как и в контроле, не происходило (рис. 1б). Наиболее предпочтителен для развития *A. bisporus* X-22 мультиконверсионный субстрат после шиитаке и вешенки, на котором скорость роста мицелия шампиньона 2.74 мм/сут достоверно не отличалась от таковой на интактном компосте 3.34 мм/сут. Культивирование на мультиконверсионном субстрате, как и на ком-

посте, сопровождалось достоверно не отличающимся во времени переходом к морфогенезу (табл.). Таким образом, представленные данные свидетельствуют о возможности использования конвертированных шиитаке субстратов в интенсивной би- и трикультуре съедобных макромицетов *P. ostreatus* НК-35 и *A. bisporus* X-22. Кроме того, сужение соотношения азота к углероду и увеличение в обедненном интактном субстрате энергетических веществ в виде растворимых питательных компонентов положительно влияет на метаболические процессы грибов и бактерий и делает конверсионные субстраты легкодоступными для усвоения микроорганизмами [Бисько и др., 1986, 1987].

Библиографический список (References)

- Бисько Н. А., Дудка И. А. Биология и культивирование съедобных грибов рода вешенка. Киев: Наук. думка. 1987. 148 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. Т. 20. N 5. С. 392–395.
- Дорожкина Л. А., Коваленко А. С., Селицкая О. В. Усовершенствование технологии приготовления компоста при выращивании шампиньонов // Агро XXI. 2000. N 4. С. 22–23.
- Дудка И. А., Бисько Н. А., Билай В. Т. Культивирование съедобных грибов. Киев: Урожай. 1992. 160 с.
- Методы экспериментальной микологии: Справочник. Под ред. В. Н. Билай. Киев: Наук. думка. 1982. 550 с.
- Титова Ю. А. Утилизация отходов сельскохозяйственного производства и пищевой промышленности съедобными грибами – путь к ресурсосберегающей технологии // Тез. докл. междунар. науч.-техн. конф. «Ресурсосберегающие технологии пищевых производств» (12–14 апреля 1998 г.). СПб. 1998. С. 146.
- Титова Ю. А. Методология получения мультиконверсионных биопрепаратов для защиты растений // Сб. науч. тр. III Всероссийского съезда по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем». СПб: ГНУ ВИЗР. 2013. N 2. с. 396–400.
- Титова Ю. А., Хлопунова Л. Б., Коршунов Д. В. Двухэтапная биоконверсия отходов с помощью *Pleurotus ostreatus* и *Trichoderma asperellum* // Микол. и фитопатол. 2002. Т. 36. N 5. С. 64–70.
- Тищенко А. Д. Теория и практика ферментации субстрата для культивирования вешенки // Школа грибоводства. 2005. Т. 2. N 32. С. 23–26.
- Annenkov B. G., Azarova V. A. Comparative evaluation of methods of increasing selectivity of straw substrates for successful growing of oyster mushrooms according to European technology // Russ. Agricul. Sci. 2009. Vol. 35, No 6. P. 390–393.

- Chitamba J., Dube F., Chiota W. M., Handiseni M. Evaluation of substrate productivity and market quality of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) grown on different substrates // Inter. J Agric. Res. 2012. Vol. 7. No 2. P. 100–106.
- Chukwurah N. F., Eze S. C., Chiejina N. V., Onyeonagu C. C., Ugwuoke K. I., Ugwu F. S. O., Nkwonta C. G., Akobueze E. U., Aruah C. B., Onwuelughasi C. U. Performance of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) in different local agricultural waste materials // African J Biotechnol. 2012. Vol. 11. No 37. P. 8979–8985.
- Čvančarová M., Křesinová Z., Filipová A., Covino S., Cajthaml T. Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products // Chemosphere 2012. Vol. 88. No 11. P. 1317–1323.
- Jafarpour M., Eghbalsaeed S. High protein complementation with high fiber substrates for oyster mushroom cultures // African J Biotechnol. 2012. Vol. 11. No 14. P. 3284–3289.
- Sales-Campos C., Pires D. A., Barbosa S. R. L., Abreu R. L. S., Andrade M. C. N. In vitro cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* in lignocellulosic residues from Amazon // African J Biotechnol. 2013. Vol. 12. No 46. P. 6526–6531.
- Sánchez C. Modern aspects of mushroom culture technology // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2004. Vol. 64. No 6. P. 756–762.
- Sánchez C. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms // Appl Microbiol Biotechnol. 2010. Vol. 85. No 7. P. 1321–1337.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 166–168

MULTIBIORECYCLING OF TECHNOGENIC WASTES BY EDIBLE MUSHROOMS

J.A. Titova

All-Russian Institute of Plant Protection, juli1958@yandex.ru

The multibiorecycling efficacy of technogenic wastes in laboratory and industrial conditions by edible mushrooms, xylophores (*L. edodes* and *P. ostreatus* HK-35) and humous saprotroph (*A. bisporus* var. *albidus* X-22) representatives using linear growth rate and morphogeny initial stages parameters was estimated. Absence of authentic differences in *P. ostreatus* HK-35 and *A. bisporus* X-22 growth rates and morphogeny approach during multirecycled substrata converting was shown that makes their possible use in binary and threefold edible macromycetes' cultivating together with their further biorecycling by micromycetes and bacteria as well.

УДК 632.4.01

МОНИТОРИНГ РАЗВИТИЯ БОЛЕЗНЕЙ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР В ТЮМЕНСКОЙ ОБЛАСТИ

Г.В. Тоболова¹, К.В. Фуртаев², И.Б. Кабанин³

¹Государственный аграрный университет Северного Зауралья, Тюмень, Россия, tgvb0@mail.ru

²Филиал ФГБУ "Россельхозцентр" по Тюменской области, Тюмень, Россия

Проанализирована динамика развития заболеваний пшеницы в Тюменской области. Установлено, что наиболее распространенными болезнями были септориоз, корневые гнили, мучнистая роса и бурая ржавчина. В ходе исследований выявлены максимальные значения распространения и развития септориоза в 1999, 2001, 2006 и 2008 годах (74%; 23.4%), корневых гнилей в 2014 году (50%; 13%), мучнистой росы в 2000 году (78%; 19%) и бурой ржавчины в 2010 году (100%; 23.8%). В среднем по данным заболеваниям эпидемиологический порог не был превышен. Следовательно, фитосанитарная обстановка по основным болезням в области характеризовалась как умеренно-напряженная.

Ключевые слова: заболевание, распространение, пшеница, полевые обследования.

К настоящему времени создано огромное количество сортов и гибридов растений, отличающихся высокой урожайностью и высокими технологическими качествами. В то же время хозяйственная деятельность человека привела к усилению воздействия патогенной микрофлоры и фауны на культурные растения. Несмотря на массовое применение пестицидов, потенциальные потери урожая от болезней и вредителей растений ежегодно оцениваются по всем категориям хозяйств России в среднем на сумму более 100 млрд. рублей.

Устойчивость к болезням зависит от взаимодействия двух организмов – хозяина и паразита. Основу этих взаимоотношений теоретически обосновал Н.И. Вавилов [1935], а в дальнейшем развили Н.Н. Флор [1962], Э.Э. Гешеле [1970], Ван дер Планк [1972], В.М. Берлянд-Кожеников и др. [1975]; Г.Э. Расселл [1982].

В настоящее время известно, что сокращение генетического разнообразия культур и сортов, размещение однородных посевов на больших территориях провоцирует быстрые сдвиги в популяциях патогенов. Создание сортов с различными механизмами иммунитета позволит стабилизировать эволюционные процессы в популяциях пато-

генов и обеспечит длительную устойчивость создаваемых сортов [Гончаров, 2000; Плотникова, 2007].

Прямые и скрытые потери урожая от комплекса грибных болезней оцениваются в 10–20% [Коробейников и др., 2006; Сидоров, 2006; Кривченко, Хохлова, 2008; Мешкова, Россеева, 2008].

Для составления карты распространения заболеваний пшеницы в Тюменской области были проведены совместно со специалистами Россельхозцентра полевые наблюдения. Исследования проводились по общепринятым методикам с 1995 по 2015 годы.

Анализ развития болезней на посевах пшеницы в Тюменской области показал, что самыми распространенными были септориоз (*Stagonospora nodorum* (Berk.) Castell. et Germano), корневые гнили (*Bipolaris sorokiniana* (Saccin Sorok) Shoem), мучнистая роса (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) и бурая ржавчина (*Puccinia triticina* Erikss.).

Наибольший процент развития за годы исследований имел септориоз. Высокая относительная влажность воздуха и большое количество осадков в 1999 году увеличили распространение до 74.4% и развитие заболевания до 23.4%. Эпифитотии также наблюдались в 2008 (18.2%), в

2000 (17.0%), в 2006 (16.0%) и в 2001 годах (15.0%), когда был превышен экономический порог вредоносности. В остальные годы развитие болезни колебалось от 4.4% до 13.0% (рис.).

Корневые гнили развивались на посевах пшеницы ежегодно, но пик развития пришелся на 2014 год и составил 13%.

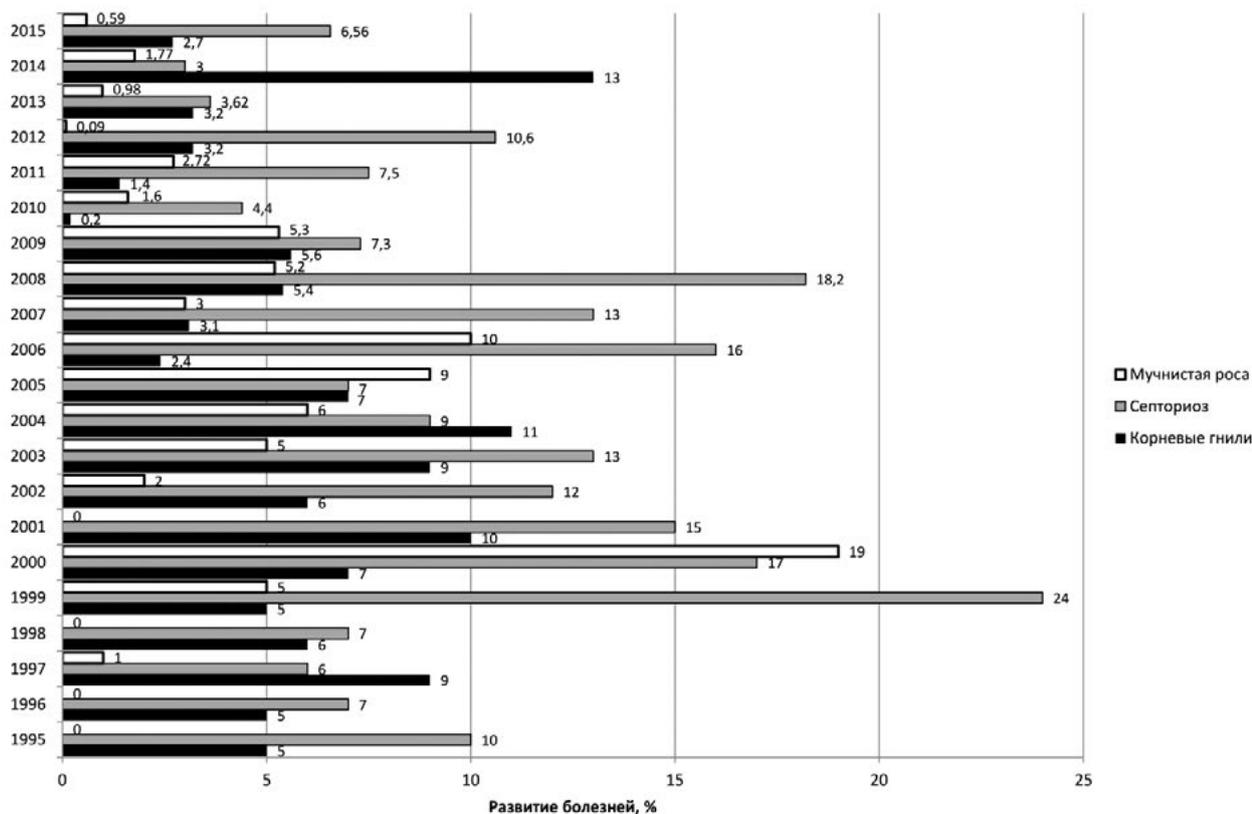


Рисунок. Динамика развития основных болезней пшеницы в Тюменской области (1995–2015 гг.)

Максимальное значение распространения (50%) было отмечено в Ишимском районе Тюменской области на пшенице сорта Омская 36 в фазу кущения по предшественнику – горох. Развитие заболевания составило 19.7%. Однако даже при таком максимуме не был превышен порог вредоносности. В среднем развитие корневых гнилей за все годы исследований в области составило 5.8%.

Пороговое значение вредоносности по мучнистой росе было превышено только в 2000 году (19.0%). В отдельные годы процент развития болезни доходил до 10%, и в среднем составил 3.7%.

Бурая ржавчина на посевах пшеницы проявлялась редко и незначительно. Среднее значение распространения заболевания по годам составило 37.4%, при среднем значении развития 8.3%. Больше всего болезнь проявила себя в 2010 году на поздних сроках посева. Ранние сроки

посева меньше пострадали, так как жаркие и сухие 3-я декада мая и июнь не способствовали переходу заболевания с озимых культур на яровые. Максимальное поражение в этом году отмечено на посевах яровой пшеницы в фазу молочно-восковой спелости на площади 700 гектаров в Упоровском районе Тюменской области. Распространение заболевания составило 100%, развитие – 23.8%.

Таким образом, за годы исследований фитосанитарная обстановка по основным болезням в Тюменской области характеризовалась как умеренно-напряженная.

В целом по области для снижения вреда заболеваний, сельхозтоваропроизводители проводили качественное обеззараживание семенного материала и в течение вегетации обрабатывали посевы сельскохозяйственных культур фунгицидами.

Библиографический список (References)

Берлянд-Кожевников В.М., Михайлова Л.А., Левитин М.М. Генетика ржавчинных грибов в связи с селекцией зерновых культур на болезнеустойчивость // Ржавчина хлебных злаков. М.: Колос. 1975. С.67–79.
 Вавилов Н.И. Учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям / Теоретические основы селекции растений. М.-Л.: Изд. ГИС совх. и колх. лит. 1935. С.893–990.
 Гончаров П.Л. Селекция сельскохозяйственных растений в Сибири на пороге XXI века / Задачи селекции и пути их решения в Сибири: Докл. и сообщ. генетико-селекц. шк. (19–23 апреля 1999 г.) // РАСХН. Сиб. отд-ние. СибНИИРС.- Новосибирск, 2000. С.199–201.
 Ван дер Планк Я.Е. Устойчивость растений к болезням. Перевод с англ. Н. А. Емельяновой. Под ред. К. М. Степанова. М.: Колос. 1972. 254 с.
 Гешеле Э.Э. Природа полевой устойчивости растений к заболеваниям и методы её в селекционной практике / ВСГИ Одесса // Сборник научных трудов. 1970. Вып.9. С.239–252.

Кривченко В.И. Головные болезни зерновых культур / В.И. Кривченко, А.П. Хохлова // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. Москва. Россельхозакадемия. 2008. С.32–85.
 Коробейников Н.И., Розова М.А., Кривогорницын Б.И., Борадулина В.А. Принципы и результаты селекции зерновых культур на устойчивость к грибным заболеваниям на Алтае / Селекция на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды // Материалы научно-методической конференции (г. Красноярск, 12–13 июля 2005 г.). Новосибирск. 2006. С.41–59.
 Мешкова Л.В., Россеева Л.П. Тенденция увеличения вирулентности возбудителя бурой ржавчины пшеницы к эффективным генам устойчивости в Омской области / Современные средства, методы и технологии защиты растений: Материалы Междунар. науч.-практ. конф.: Сборник научных статей // НГАУ СибНИИЗХим, Новосибирск. 2008. С.149–153.

Плотникова Л.Я. Иммуитет растений и селекция на устойчивость к болезням и вредителям/ Л.Я. Плотникова. Под ред. Ю.Т. Дьякова. – М.: Колос. 2007. – 359 с.

Расселл Г.Э. Селекция растений на устойчивость к вредителям и болезням/ Пер. с англ. Е.Н. Фолькман; под ред. и с предисл. Ю. Н. Фадеева. М.: Колос. 1982. 421 с.

Сидоров А.В. Иммунологическое обеспечение селекционного процесса зерновых культур/ Селекция на устойчивость к биотическим и абиотическим факторам среды.// Материалы научно-методической конференции (г. Красноярск, 12–13 июля 2005 г.). Новосибирск, 2006. С.71–82.

Флор Х.Х. Генетическое регулирование взаимодействий хозяина и паразита при болезнях, вызываемых ржавчинными грибами (1959). В кн.: Проблемы и достижения фитопатологии: Пер. с англ. М. Изд. сельскохозяйственной литературы, журналов и плакатов. 1962. С. 149–159.

Фитосанитарный обзор и прогноз появления и распространения вредителей и болезней сельскохозяйственных культур в Тюменской области за 2002–2015 годы/ Филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Тюменской области// Изд. ГУП ТО «ТИД» Филиал «Ялуторовская типография». 94 с., 104 с., 127 с., 130 с., 136 с., 117 с., 140 с.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 168–170

MONITORING OF THE DEVELOPMENT OF CROPS DISEASES IN TYUMEN REGION

G.V. Tobolova¹, K.V. Furtaev², I.B. Kabanin²

¹State Agrarian University of Northern Zauralya, tg60@mail.ru

²Branch FGBI «Rosselkhoztsentr» in Tyumen Region

It was analyzed the dynamics of development of wheat diseases in the Tyumen region. It was found that the most common diseases are septoria spot, root rot, powdery mildew and brown rust. During the research the maximum values of the spread and development of septoria spot in 1999, 2001, 2006 and 2008 (74%; 23.4%), root rots in 2014 (50%; 13%), powdery mildew in 2000 (78%; 19%) and brown rust in 2010 year (the 100%; 23.8%) have been revealed. On average the epidemiological threshold of these diseases was not exceeded. Consequently, the phytosanitary situation on the main diseases in the region was characterized as a moderately intense.

УДК 632.4.01/08: 582.284

ОЦЕНКА ИММУНИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ МИКРОБНОЙ ХИТИНАЗЫ В ОТНОШЕНИИ РИЗОКТОНИОЗА КАРТОФЕЛЯ

О.Г. Томилова¹, А.Б. Дужак²

¹Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия, toksina@mail.ru

²Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Изучена возможность применения в качестве фитоактиватора для защиты картофеля от ризоктониоза микробной хитиназы. С помощью методов оценки биохимического и физиологического состояния растений (активность пероксидазы, содержание салициловой кислоты, разность суммарных мембранных биопотенциалов листовых пластин) зарегистрировано изменение иммунного статуса обработанных растений. Выявлено повышение продуктивности картофеля и его устойчивости к ризоктониозу в результате предпосадочной обработки клубней хитиназой. Полученные данные могут быть использованы при разработке полифункциональных препаратов. Экзогенная микробная хитиназа способна активно воздействовать не только на компоненты микробных биопрепаратов, но и на защищаемое растение.

Ключевые слова: Индуцированный иммунитет растений, элиситор, критерии фитоиммунокоррекции, развитие болезни, урожайность.

Поиск новых методов и средств повышения адаптивных способностей сельскохозяйственных растений, позволяющих противостоять широкому комплексу негативных факторов абиотической и биотической природы, дает возможность значительно трансформировать существующие агротехнологии. В этом плане большой интерес представляют индукторы болезнестойкости растений. Они не обладают биоцидным действием, а воздействуют на вредный организм опосредованно через растение, активируя его эндогенные защитные механизмы. Применение иммуоиндукторов не сказывается отрицательно на экологии, не вызывает выработки у патогенов резистентности и часто кроме защиты от болезней сопровождается повышением урожая культуры и его качества [Тютюрев, 2006; Поликсенова, 2009].

Однако положительные результаты иммунизации растений достигаются не всегда. Передозировка иммуоиндуктора или несвоевременность обработки могут привести к отсутствию защитного эффекта. Для оценки иммунокоррекции необходимо пользоваться рядом критериев, позволяющих судить о глубине, характере и продолжительности действия выбранного активатора на

растения. В качестве предикторов индуцированного иммунитета можно использовать ряд биохимических и физиологических показателей (активность ферментов группы пероксидаз, уровень содержания в растениях салициловой кислоты, величину электрических биопотенциалов, интенсивность транспирации и др.), которые необходимо соотносить с критериями визуальной оценки состояния популяции растений [Рябчинская и др., 2008].

Нами в качестве элиситора была испытана бактериальная хитиназа, полученная путем биотехнологического синтеза *Serratia marcescens*. Следует отметить, что бактериальная хитиназа может активно ингибировать развитие фитопатогенов грибной природы [Duzhak et al., 2012, Saber et al., 2015]. Также фермент хитиназа может выступать и в качестве активатора и к энтомопатогенным препаратам на основе бакуловирусов или *Bacillus thuringiensis* (БТ). На примере регуляции численности чешуекрылых фитофагов капусты нами ранее было показано, что сочетание экзогенной хитиназы с БТ или вирусом ядерного полиедроза капустной совки повышает эффективность обработок против личинок чешуекрылых вредителей капусты [Shternshis et al., 2002]. Применение экзогенной хитиназы

как в качестве активатора энтомопатогенной инфекции так и в качестве антагониста или элиситора обеспечивает эффект в очень низких концентрациях.

Выявлено повышение устойчивости картофеля к ризоктониозу в результате предпосадочной обработки клубней бактериальной хитиназой. Отмечено достоверное снижение индекса развития ризоктониоза, повреждения стеблей и столонов растений в результате иммунизации, что отразилось на продуктивности и качестве клубней нового урожая. С помощью методов оценки биохимического и физиологического состояния растений (активность пероксидазы, содержание салициловой кислоты, разность

суммарных мембранных биопотенциалов листовых пластин) зарегистрировано изменение иммунного статуса обработанных растений. Отмечено увеличение относительных значений этих показателей в фазу полных всходов и последующее их снижение в течение вегетации.

Таким образом, на основании проведенных нами исследований можно сделать вывод о сложном разнонаправленном воздействии микробных метаболитов, в частности экзогенной хитиназы, и о перспективности её использования в качестве компонента полифункциональных биопрепаратов нового поколения.

Библиографический список (References).

Поликсенова В. Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата) // Вестник БГУ. Сер. 2. 2009. N 1. С. 48–60.
Рябчинская Т. А., Харченко Г. Л., Саранцева Н. А., Бобрешова И. Ю., Злотников А. К. Биохимические и физиологические предикторы популяционного индуцированного иммунитета при обработке растений иммуноиндукторами // Вестник защиты растений, 2008. N 2. С. 34–41.
Тютюрев С. Л. Индуцированный иммунитет – новое направление в интегрированной защите растений // Индуцированный иммунитет сельскохозяйственных культур – важное направление в защите растений: Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Большие Вяземы Московской области. 2006. С. 8–11.

Duzhak A. B., Panfilova Z. I., Duzhak T. G., Vasyunina E. A., Shternshis M. V. Role of prodigiosin and chitinases in antagonistic activity of the bacterium *Serratia marcescens* against the fungus *Didymella applanata* // Biochemistry (Moscow) 2012. Vol. 77. No. 8. P. 910–916.
Saber W. I. A., Ghoneem K. M., Al-Askar A. A., Rashad Y. M., Ali A. A., Rashad E. M. Chitinase production by *Bacillus subtilis* ATCC 11774 and its effect on biocontrol of rhizoctonia diseases of potato // Acta biologica hungarica. 2015. Vol. 66. No. P. 436–448.
Shternshis M. V., Ovchinnikova L. A., Duzhak A. B., Tomilova O. G. The efficiency of viral and bacterial entomopathogens formulated with chitinase for biocontrol of Lepidopteran cabbage pests // Archives of Phytopathol. Plant Protection. 2002. Vol. 35. No. 2. P. 161–169.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 170–171

ESTIMATION OF THE IMMUNIZING ACTION OF MICROBIAL CHITINASE AGAINST THE POTATO STEM CANCKER

O.G. Tomilova¹, A.B. Duzhak²

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, toksina@mail.ru

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS

The possibility of application of the microbial chitinase as a phytoactivators for protection of a potato from stem canker have been studied. The immune status change of the processed plants was registered by using of the definition methods of a biochemical and physiological condition of plants (the peroxidase activity, the content of salicylic acid, the difference between the total membranous biopotentials of sheet plates). Increasing of the potato productivity and its resistance to stem canker as a result of preliminary treatment by chitinase before planting of the tubers have been revealed. The obtained data can be used for working out of multifunctional preparations. Exogenous microbial chitinase is able to actively influence not only on the components of biological preparations, but also on protected plant.

УДК 633.1: 632.4.01/08

МОДИФИКАЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ВИРУЛЕНТНОСТИ ОБЛИГАТНЫХ ФИТОПАТОГЕНОВ ЗЛАКОВ: ВЫВОДЫ И СЛЕДСТВИЯ

Л.Г. Тырышкин

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, tyryshkinlev@rambler.ru.

Целью настоящего исследования было изучить влияние факторов внешней среды на вирулентность возбудителей листовой ржавчины пшеницы, листовой ржавчины ржи, карликовой ржавчины ячменя, корончатой ржавчины овса и мучнистой росы ячменя. Показано изменение вирулентности к растениям-хозяевам монопустьельных изолятов патогенов под действием азотных удобрений, бензимидазола, гидразида малеиновой кислоты, бензиламинопурина, хлористого калия, фосфорнокислого натрия, разных значений pH и температуры. Данные изменения под действием физических и химических факторов обусловлены модификационной изменчивостью по типу фенокопий. Полученные данные указывают на то, что взаимоотношение «ген-на-ген» является только частным случаем взаимодействия злаковых растений и их облигатных фитопатогенов. Обсуждаются возможные практические следствия полученных данных и сделанных на их основе выводов.

Ключевые слова: пшеница, ячмень, рожь, овес, ржавчина, мучнистая роса, теория «ген-на-ген»

Согласно современным представлениям вирулентность облигатных (биотрофных) фитопатогенов злаков к конкретному образцу хозяина определяется аллельны-

ми состояниями генов устойчивости и комплементарных им генов вирулентности. Однако, известны случаи изменения результатов взаимодействия (растения и паразита

типов реакции) под действием факторов внешней среды – температуры [Browder, Eversmeyer, 1986], бензимидазола [Тырышкин, 2010], гидразида малеиновой кислоты [Samborski, Shaw, 1957; Тырышкин, 2005], кинетина [Тырышкин, 2013]; как предполагалось, такие изменения связаны с влиянием этих факторов на растения. Альтернативным теоретическим объяснением данного явления может быть изменение вирулентности патогенов под действием абиотических факторов среды. Цель настоящей работы – экспериментальная проверка данной гипотезы.

Монопустульные изоляты возбудителей листовой ржавчины пшеницы (*Puccinia triticina* Erikss), листовой ржавчины ржи (*P. dispersa* Eriks and Henn), карликовой ржавчины ячменя (*P. hordei* Otth), корончатой ржавчины овса (*P. coronata* Corda) и мучнистой росы ячменя (*Blumeria graminis* (DC.) Speer f.sp. *hordei* Marchal.) выделяли и поддерживали на восприимчивых генотипах соответствующих хозяев. Монопустульным изолятом заражали помещенные на воду отрезки листьев восприимчивого сорта и через 4 суток часть листьев переносили в кюветы с ватой, смоченной водой и водными растворами гидразида малеиновой кислоты, бензиламинопурина, бензимидазола, нитратов аммония и кальция, хлористого калия, однозамещенного фосфорнокислого натрия, серной кислоты, едкого калия; кюветы с листьями на воде выдерживали при 3-х различных температурах. Через 3-е суток (7 суток после заражения) клоны использовали для инокуляции отрезков листьев одних и тех же проростков образцов хозяев. Данная методика позволяет полностью исключить влияние изучаемых факторов внешней среды на устойчивость анализируемых растений; кроме того, элиминировать возможное влияние на результаты гетерогенности образцов, используемых для дифференциации изолятов. Типы реакции на заражение учитывали на 7-ые сутки после инокуляции по стандартным шкалам. В некоторых случаях проведено изучение вирулентности и на интактных растениях при заражении одним и тем же изолятом патогена, размноженным в разных условиях, одного и того же проростка образца.

Во всех системах взаимодействия выявлено изменение вирулентности изолятов грибов к некоторым дифференциаторам под действием изучаемых факторов среды. Присутствие азотных удобрений, бензимидазола, а также высокое значение pH, и высокая температура при размножении изо-

лятов в подавляющем большинстве случаев приводили к авирулентности части клонов к части дифференциаторов, к которым они были вирулентны после размножения на отрезках листьев восприимчивых сортов в воде; присутствие соли калия в большинстве случаев обуславливало вирулентность ряда изолятов грибов, авирулентных к растениям после размножения на листьях в воде. Остальные факторы действовали разнонаправлено в зависимости от генотипа патогена и растения. После повторного изучения субизолятов патогенов, размноженных на воде, они восстанавливали «типичную» вирулентность; т.е. данные изменения должны быть отнесены к модификационной изменчивости по типу фенкопий. Таким образом, основной вывод, который можно сделать по результатам данного исследования – фенотипическое проявление вирулентности облигатных патогенов злаков не является константным, но зависит от физических и химических факторов внешней среды. Это в свою очередь указывает на то, что взаимоотношение «ген-на-ген» [Flor, 1956] является только частным случаем взаимодействия злаков и их облигатных фитопатогенов.

Полученные данные и сделанные на их основе выводы в свою очередь указывают на: невозможность использования данных о частотах вирулентности в популяциях патогенов, полученных в лабораторных экспериментах, для предсказания пораженности образцов в полевых условиях; невозможность сравнения результатов изучения частот вирулентности в конкретных популяциях патогенов при использовании различных методик их размножения в разных лабораториях и даже в одной лаборатории при возможном варьировании факторов среды (температуры, химического состава субстратов выращивания растений-дифференциаторов и размножения монопустульных изолятов грибов); возможность объяснения различий в пораженности образцов в разных регионах и в одном регионе в разные годы не с только различиями в генетической структуре популяций грибов, но и скорее всего различиями во внешних условиях, влияющих на вирулентность патогенов; возможность замены трудоемкой и длительной процедуры создания набора сортов-дифференциаторов размножением изолятов грибов в контрастных условиях среды, после чего практически любой набор генотипов хозяина обладает высокой дифференцирующей способностью.

Библиографический список (References)

- Тырышкин Л. Г. Влияние гидразида малеиновой кислоты на экспрессию эффективных генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине // Микология и фитопатология. 2006. Т.40. С. 75–76.
- Тырышкин Л. Г. Индукция устойчивости почти-изогенных линий сорта мягкой пшеницы Тэтчер к листовой ржавчине *Puccinia triticina* Erikss под действием бензимидазола // Доклады РАСХН. 2010. N 2. С. 8–10.
- Тырышкин Л. Г. Индукция устойчивости образцов мягкой пшеницы к листовой ржавчине под влиянием кинетина // Доклады РАСХН. 2013. N 4. С. 20–22.
- Browder L. E., Eversmeyer M. G. Interaction of temperature and time with some *Puccinia recondita: Triticum* gene pairs // Phytopathology. 1986. V. 76. P. 1286–1288.
- Flor H. H. The complementary genetic systems in flax and flax rust // Adv. Genet. 1956. V.8. P.29–54.
- Samborski D. G., Shaw M. The physiology of host-parasite relations. IV. The effect of maleic hydrazide and indoleacetic acid on the rust resistance of Khapli and Little Club wheats // Can. J. Bot. 1957. V.35. P.449–455.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 171–173

MODIFICATION VARIABILITY OF VIRULENCE IN CEREALS OBLIGATE PHYTOPATHOGENS: CONCLUSIONS AND CONSEQUENCES

L.G. Tyryshkin

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, tyryshkinlev@rambler.ru

The general task of the work was to study the influence of environmental factors on virulence in causal agents of wheat, barley, oat and rye rusts and barley powdery mildew. The changes in the pathogen monopustule isolates virulence were shown under the effect of nitrogen fertilizers, benzimidazole, hydrazide of maleic acid, benzilaminopurine, potassium chloride, sodium

phosphate, different pH values and temperatures. These changes are caused by modification variability in the form of phenocopies. According to the data gene-for-gene relationship is only a partial case of cereals and their phytopathogens interactions. Possible practical consequences of the obtained data and conclusions are under discussion.

УДК 574.472

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДА ПРИМАНОК ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ АСКОМИЦЕТОВ (*ASCOMYCOTA*, *HYPOCREALES*) ИЗ ПОЧВ

М.В. Тюрин, В.Ю. Крюков, О.Г. Томилова, О.Н. Ярославцева, Н.А. Крюкова, В.В. Глупов

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия, maktolt@mail.ru

Использование личинок *Galleria mellonella*, парализованных ядом *Habrobracon hebetor*, повышает чувствительность метода ловушек для выделения энтомопатогенных грибов из почв более чем в 190 раз. Модифицированный метод позволяет изолировать грибы из почвы с очень низкими концентрациями конидий (20–30 конидий / г. почвы). Метод успешно опробован для микологического анализа почв из разных регионов: от лесотундры до степей.

Ключевые слова: аскомицеты, патогены, метод приманок, почва, яды животных, *Habrobracon hebetor*, *Galleria mellonella*.

Энтомопатогенные аскомицеты – важнейшие компоненты наземных биоценозов, образующие симбиотические связи с растениями, регулирующие численность членистоногих, а также активно применяемые в технологиях производства органической сельскохозяйственной продукции [Lacey et al., 2015]. В настоящее время используются различные методы выделения энтомопатогенных аскомицетов из почв. Один из самых распространенных и наименее трудоемких является метод приманок или байт-метод [Zimmermann, 1986]. Однако, одно из ограничений данного метода связано с разным уровнем восприимчивости насекомых-приманок к определенным видам грибов [Sheepmaker, Butt, 2010]. Ранее нами было установлено, что поражение личинок *G. mellonella* ядом эктопаразитоида *Habrobracon hebetor* (лабораторная популяция) приводит к резкому (5000-кратному) повышению восприимчивости огневки к энтомопатогенным грибам [Крюков et al., 2013], что связано с сильным ингибированием иммунитета насекомых под действием яда [Крюкова et al., 2011, 2015]. На основании этого был модифицирован метод приманок для выделения из почвы энтомопатогенных аскомицетов.

При использовании в качестве приманок личинок огневки *G. mellonella*, парализованных ядом паразитоида *H. hebetor*, удалось повысить чувствительность данного метода в 193 раза. Так, при использовании парализованных личинок полулетальная доза (LC_{50}) для развития микоза *B. bassiana* составила всего 28 конидий/грамм почвы, тогда как при использовании интактных личинок полулетальная доза составила 5434 конидий/грамм почвы. Метод

успешно применен при микологическом анализе почв из различных природных зон – от лесотундр до степей. Для подавляющего большинства исследуемых образцов ($n=17$) отмечено статистически достоверное увеличение доли личинок с развившимся микозом после парализации ядом ($F_{1,16} = 65.6$, $p = 0.000001$) при этом грибы р. *Metarhizium* и *Cordyceps* были изолированы только из парализованных гусениц.

Следует отметить, что из трупов, парализованных ядом, выделялись преимущественно энтомопатогенные грибы (*Beauveria* и *Metarhizium*), хотя в ряде случаев отмечался поверхностный рост сапротрофных грибов (*Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*). В лабораторных опытах с использованием энтомопатогенных грибов с различной специализацией (*Beauveria bassiana*, *Lecanicillium muscarium*, *Metarhizium pempfigi*, *Cordyceps militaris*), а также сапротрофов (*Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*) было показано, что мумификация парализованных ядом личинок происходит только при инфицировании энтомопатогенными грибами, но не сапротрофами. После инокуляции сапротрофами наблюдается лишь поверхностный рост грибов.

Таким образом, усовершенствованный метод позволяет изолировать грибы при их низкой численности (20–30 конидий/грамм почвы) в том числе в сухих стадиях (степи), где выделение грибов общепринятыми методами является довольно трудоемким процессом. Кроме того, полученные данные подтверждают гипотезу о необходимости стресса у насекомых для успешного развития энтомопатогенных аскомицетов.

Библиографический список (References)

- Lacey L.A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D.I., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M.S. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future // J. Invertebr. Pathol. 2015. V. 132. P. 1–41.
- Kryukov V.Yu., Kryukova N.A., Glupov V.V. Susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to anamorphic entomopathogenic ascomycetes under envenomation and parasitization by *Habrobracon hebetor* // Russ. J. Ecol., 2013, V. 44, N. 1, P. 89–92.
- Kryukova N.A., Dubovskiy I.M., Chertkova E.A., Vorontsova Ya.L., Slepneva I.A., Glupov V.V. The effect of *Habrobracon hebetor* venom on the activity of the prophenoloxidase system, the generation of reactive oxygen species and encapsulation in the haemolymph of *Galleria mellonella* larvae // J. Insect Physiol. 2011. V. 57. N. 6. P. 796–800.
- Sheepmaker J.W.A., Butt T.M. Natural and released inoculum levels of entomopathogenic fungal biocontrol agents in soil in relation to risk assessment and in accordance with EU regulations // Biocontr. Sci. Tech. 2010. V. 20. N. 5. P. 503–552.
- Zimmermann G. The *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil // J. Appl. Entomol. 1986. V. 102. P. 213–215.

IMPROVEMENT OF BAIT METHOD FOR ISOLATION OF ENTOMOPATHOGENIC ASCOMYCETES (*ASCOMYCOTA*, *HYPOCREALES*) FROM SOIL

M.V. Tyurin, V.Yu. Kryukov, O.G. Tomilova, O.N. Yaroslavtseva, N.A. Kryukova, V.V. Glupov

Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, maktolt@mail.ru

Using of *Galleria mellonella* larvae envenomated with ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* strong increases the test-sensitivity of bait method to isolation of entomopathogenic fungi from soil. The modified method allows to isolate fungi from soil with very low concentrations (20–30 conidia/g. of soil). The method successfully tested for mycological analysis of soils from different regions: from forest-tundra to the steppes.

УДК. 632.937

ФАУНА, ТРОФИЧЕСКИЕ СВЯЗИ И РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГАЛЛИЦ (*DIPTERA*, *CECIDOMYIIDAE*), РАЗВИВАЮЩИХСЯ В КОЛОНИЯХ КЛЕЩЕЙ (*ACARINA*)

З.А. Федотова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, zoya-fedotova@mail.ru

В мире известно 70 видов хищных галлиц 7 родов из 3 надтриб, развивающихся в колониях клещей: *Arthrocnodax* Rübсаamen (47 видов), *Lestodiplosis* Kieffer (6), *Feltiella* Rübсаamen (10), *Silvestriola* Kieffer, 1912 (3), *Trisopsis* Kieffer, 1912 (2). Добычей галлиц являются клещи из семейств *Acaridae* (4 вида), *Eryophyidae* (48), *Pyroglyphidae* (1), *Tarsonemidae* (1), *Tenuipalpidae* (1), *Tetranychidae* (10).

Ключевые слова: галлицы-хищники, пищевая специализация, клещи, *gallmidges*, *mitepredators*, *Acaridae*, *Eryophyidae*, *Pyroglyphidae*, *Tenuipalpidae*, *Tarsonemidae*.

Галлицы-хищники распространены на всех континентах, но только немногие из них применяются в биологической борьбе. Большинство видов известны только по типовым местообитаниям, а виды клещей, которыми они питаются, не определены и часто приводятся только до семейства. Очень много видов галлиц, развивающихся в галлах растительных клещей, не описаны и указываются по кормовому растению и форме галла. Большинство видов хищных галлиц являются монофагами, в галлах растительных клещей *Eriophyidae* встречаются от пустынь до верхней границы пояса хвойного леса. Роды *Feltiella* и *Tessarodiplosis*- специфические по отношению к клещам.

Роды надтрибы *Lestodiplosidi* доминируют среди галлиц-хищников клещей: *Arthrocnodax* Rübсаamen (47 видов), 1895, *Lestodiplosis* Kieffer, 1894 (6), *Feltiella* Rübсаamen, 1910 (10), *Silvestriola* Skuhrová, 1997 (3), *Trisopsis* Kieffer, 1988 (2).

Все представители космополитного рода *Arthrocnodax* развиваются в галлах растительных клещей *Eriophyidae*. Галлы войлочные, покрыты мелкими крепкими волосками, вызывают деформацию почки, верхушки побега или соцветия. Такие галлы в месте обнаружения не являются редкими, в массе поражают почти все растения специфического для клеща вида. Во всех случаях, когда мы находили галлы растительных клещей, в них присутствовали личинки галлиц. Очень редко личинки *Arthrocnodax* окукливаются в галлах, обычно перед окукливанием уходят в почву. Вероятно, это связано с трудностями продвижения куколки через густое опушение к поверхности галла. Из 49 видов рода *Arthrocnodax* 28 были описаны из Казахстана, где встречаются на растениях 17 семейств; и имаго 4-х видов, вывести не удалось. На сложноцветных было обнаружено 6 видов, на губоцветных 4, на розоцветных и крестоцветных –

по 3, на маревых и бобовых – по 2 [Федотова, 2000]. Вид растительного клеща-хозяина галлицы и галлицу-хищника можно определить по характерной форме галла. Например, в галлах *Eriophyes vitis* [Pagenstecher, 1857] на винограде (*Vitis* sp.) развивается *A. vitis* Rübсаamen, 1895; в галлах *Phyllocoptes schlehtendali* [Nalepa, 1891] на яблоне (*Malus* sp.) – *A. mali* Kieffer, 1926. Всего в Палеарктической области выявлено 40 видов *Arthrocnodax*, в Неарктической – 4, в Ориентальной – 2 и в Неотропической – 1, что свидетельствует об очень слабой изученности галлиц в целом. Принадлежность 2 видов к этому роду [Gagné et al., 2014] нуждается в уточнении.

Род *Lestodiplosis* наиболее массовый, включает 181 вид [Gagné et al., 2014], но только 6 видов галлиц развиваются в колониях клещей, в том числе *A. tarsonemi* Rübсаamen, 1895 на *Tarsonemus* sp. (*Tarsonemidae*) и *A. woeldickii* Contarini, 1839 на чучелах птиц, где охотится на других *Acarina*. Вид *L. raphani* [Barnes, 1929], питающийся на *Acarina* в запасах зерна, недавно перенесен в род *Plutodiplosis* Kieffer, 1912, принадлежащий надтрибе *Lestodiplosidi*, а не *Aphidoletidi*, как предполагалось ранее [Федотова, 2015]. Все виды палеарктические, кроме ориентального *L. oomeni* Harris, 1982, развивающегося на *Calacarus carinatus* (*Eriophyidae*). Многие виды *Lestodiplosis*, описанные из недеформированных цветков разных родов и семейств растений, вероятно, питаются клещами и трипсами.

Космополитный род *Silvestriola* включает 14 видов, среди которых космополитный *S. cincta* Felt 1907, связан с клещами, поражающими пчёл и карантинный вид – тутовую щитовку *Pseudaula caspispentagona* (*Hemiptera: Diaspididae*). Палеарктический *S. tyrophagi* Dombrovskaja 1940 питается амбарным удлинённым клещом – *Tyrophagus noxius* (*Acaridae*), предлагается для использования в

биологической борьбе [Елаго, 1940]. Другой вид – *S. farinicola* [Barnes 1929] питается клещом домашней пыли *Dermatophagoides farina* [Hughes, 1961] (*Pyroglyphidae*), который встречается и в муке.

Род *Feltiella* включает 10 видов, почти все развиваются в колониях красных паутиных клещей *Tetranychus spp.* (*Tetranychidae*). Из них 2 вида: *F. acarisuga* Vallot, 1827 и *F. acarivora* Zehntner, 1901 во всем мире активно используются для борьбы с клещами в теплицах и широко распространены в природных популяциях. Североамериканский вид *F. pini* Felt, 1907 как иммигрант встречается в колониях различных видов *Tetranychus spp.* на сосне (*Pinus sp.*) в неоторопической и австралийской областях. Всего в роде 2 космополитных, 4 неоторопических, 2 ориентальных и 1 неоторопический вид. Описанный из Швейцарии *F. acarisuga* включает 9 синонимов, из них 4 описаны из природных популяций Северной Америки, 2 из Индии и 3 из Европы, валидность которых, вероятно, может быть восстановлена. Например, *Therodiplosis*

beglarovi Mamaev, 1965, описанный из Ленинградской области по личинкам, хищничающим в колониях *Schizotetranychus telarius* (L.) Duges, 1834, явно отличается от личинок рода *Feltiella* [Мамаева, Кривошеина, 1965].

В роде *Trisopsis* 25 видов, 2 связаны с клещами: космополитный *T. incisa* [Felt, 1907] встречается в колониях *Tyrophagus sp.* (*Astigmata*), на коконах и личинках других насекомых. Палеарктический *T. tyroglyphi* Barnes, 1951 питается в колониях *Dermatophagoides farinae*.

По одному роду надтриб *Mycodiplosidi* (*Mycodiplosis* Rübbsaamen, 1895 с 46 видами) и *Contariniidi* (монотипный *Tessaradiplosis*, Baylac, 1988) включают по одному палеарктическому виду, особи которого питаются клещами. *M. padi* Mamaeva, 1964 описан из галлов клещей *Eriophyespadi* на черёмухе (*Padus. sp.*), а *T. entomophila* (Perris, 1855) – в колониях *Acarus sp.* Для биологического контроля клещей перспективны галлицы – широкие олигофаги и полифаги из родов *Feltiella*, *Lestodiplosis*, *Silvestriola*.

Библиографический список (References)

- Елаго Л. Ф. Об использовании галлицы *Silvestrina tyrophagi* Domb. в борьбе с удлиненным клещом // Вестник защиты растений. 1940. N 3. С. 85–86.
- Мамаев Б. М., Кривошеина Н. П. Личинки галлиц (*Diptera, Cecidomyiidae*). Сравнительная морфология, биология, определительные таблицы. Москва: Наука, 1965. 279 с.
- Федотова З.А. Галлицы-фитофаги (*Diptera, Cecidomyiidae*) пустынь и гор Казахстана: морфология, биология, распространение, филогения и систематика. Самара: Самарской ГСХА, 2000. 803 с.

- Федотова З. А. Редкие роды галлиц *Plutodiplosis* Groveret Bakhshi и *Triommatomyia* Mamaev (*Diptera, Cecidomyiidae: Lestodiplosidi stat. N., Aphidoletidi*) и описания нового и малоизвестного видов из Южного Приморья // Энтомологическое обозрение. 2015. Т. 94. N 3. С. 719–738.
- Gagné R. J., Jaschhof M. 2014. A Catalog of the Cecidomyiidae (Diptera) of the World. 3rd Edition. Digital version 2. 2014. ZooBank registration (1/1/2014): urn:lsid:zoobank.org:pub:2FC82C5E-40FD-47ED-B6F1-BEC0DFFB776D

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 174–175

FAUNA, TROPHIC CONNECTIONS AND THE SPREAD OF GALL MIDGES (*DIPTERA, CECIDOMYIIDAE*), DEVELOPING IN THE COLONIES OF MITES (*ACARINA*)

Z.A. Fedotova

All-Russian Institute of Plant Protection, zoya-fedotova@mail.ru

70 species of the predatory gall midges of 7 genera and 3 super tribes developing in the colonies of mites: *Arthrocnodax* Rübbsaamen (47 species), *Lestodiplosis* Kieffer (6), *Feltiella* Rübbsaamen (10), *Silvestriola* (3), *Trisopsis* (2) are known in the world. The prey of gall midges are the mites from the families *Acaridae* (4 species), *Eriophyidae* (48), *Pyroglyphidae* (1), *Tarsonemidae* (1), *Tenuipalpidae* (1), *Tetranychidae* (10).

УДК 579.64

К ТЕРМИНУ «ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ»

Р.М. Хайруллин, Е.Р. Сарварова

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, molgen@anrb.ru

На основе экспериментальных работ и теоретических исследований предлагается авторское определение термина «эндофитные бактерии».

Ключевые слова: эндофитные бактерии, механизмы проникновения, терминология.

Наличие множества высокоточных современных методов физико-химической и молекулярной биологии заставляет сомневаться многих исследователей в актуальности вопросов терминологии, относящейся к микроорганизмам. Однако выявление у них новых свойств или критический обзор уже известных с целью систематизации знаний, порой, ставят вопросы, ответы на которые, казалось

бы, известны всем специалистам. Это, на наш взгляд, относится к термину «эндофитные бактерии». В ряде работ, проведенных нами, а также коллегами лаборатории выявлено, что *in vitro* при нанесении бактерий рода *Bacillus* на неповрежденную поверхность листьев растений или на агаровую среду клетки одних штаммов или подвидов были способны проникать внутрь тканей, тогда как других

– не проявляли такое свойство. В дополнении искусственные или природные (насекомые) механические повреждения растений увеличивали концентрацию микробных клеток в растительных тканях, что было ожидаемо. Из тканей растений некоторых видов, выделяющих при поранении млечный сок, эндофиты не выделялись, или их количество было относительно небольшим. В связи с этим возникает несколько вопросов. 1) Если через повреждения во внутренние ткани растений могут проникнуть клетки любых видов бактерий, встречающихся в фитоценозах, то всех ли можно назвать эндофитами? 2) Как можно объяснить факт, что некоторые виды бактерий, например, *Lactobacillus* sp., редко выявляются внутри растительных тканей, несмотря на высокую частоту встречаемости в филлоплане отдельных видов растений. 3) Почему одни представители рода *Bacillus* могут проникать внутрь растений без механических повреждений тканей, тогда как другие не способны к этому.

Значительное число научных статей, опубликованных 2–3 года назад (например, цитируемых в обзорной работе Haridoim et al., [2015]) свидетельствует о не слабеющем интересе к вопросу: «Кто же такие – эндофиты?». В настоящее время существует, по крайней мере, не менее десяти определений термина «эндофит», относящихся к микроорганизмам [Hyde, Soyton, 2008; Gaiero et al., 2013], в том числе, например в России, в реестре стандартов (ГОСТ 21507-76). Мы считаем, что к эндофитам трудно отнести микроорганизмы, проникающие в растительные ткани через механические повреждения (вследствие обработки почвы различными орудиями или при повреждении насекомыми) и способные некоторое время жить внутри растения или переходить в некультивируемое состояние. Выделение млечного сока у некоторых видов растений приводит к моментальной закупорке ран и, как следствие, перекрывает доступ микроорганизмам во внутренние ткани, но бактерии, приспособившиеся в ходе эволюции к такому ответу растений и способные выживать внутри макроорганизма без нанесения ему вреда, можно отнести к эндофитам. Исходя из этого, согласно Hyde и Soyton

[2008], справедливо обсуждать эндофитность в аспекте эволюции взаимоотношений макро- и микроорганизма. Обсуждая генетический аспект эндофитности, и, мы добавим, вопросы выделения из растительных тканей некультивируемых форм бактерий, отдельные исследователи рассматривают эндофитов как набор микробных геномов, локализованных внутри органов растений («... microbial genomes located inside plant organs» [Bulgarelli et al., 2013], цитировано по Gaiero J.R. et al., 2013). Интересным в аспекте обсуждения свойств эндофитности является, на наш взгляд, способность бактерий проникать в растительные ткани через устьицы с помощью жгутиков. Так было показано, что мутация в генах флагеллинов *flaA* (*Listeria monocytogenes*) или *flaC* (*Escherichia coli* O157:H7) у патогенных для человека бактерий приводит к потере имевшейся у них способности проникать внутрь растений [Gorski, Duhe, Flaherty, 2009; Xicohtencatl-Cortes et al., 2009].

Кроме указанных вопросов в научной литературе обсуждаются свойства эндофитов стимулировать рост растений, для чего вводится термин PGPEB (Plant Growth Promoting Endophytic Bacteria, Tsuchiya Kenichi [2009]) или PGPE (Plant Growth Promoting Endophytes), [Егоршина, 2012].

На наш взгляд, определение «эндофитные бактерии» может быть следующим: эндофитные бактерии – бактерии, проникающие во внутренние растительные ткани без повреждений, вызванных воздействием других факторов, и способные жить внутри растений, не нанося им вреда». Свойство «проникать без повреждений» предполагает способность бактерий внедряться в ткани без механических повреждений, например, через устьица, или используя собственные ферментные системы, разрушающие покровные ткани органов растений, свойство «жить» – отсекает переход от способности размножаться вне растений к некультивируемой форме существования внутри растений и обусловленную этим бессимптомность (или не нанося вреда). Эти и другие аспекты экспериментальной работы и теоретических изысканий обсуждаются в докладе.

Библиографический список (References)

- ГОСТ 21507-76. Защита растений. Термины и определения.
Егоршина А.А. Биологическая активность эндофитных штаммов *Bacillus subtilis* Cohn, перспективных в качестве основы новых препаратов для растениеводства. Дисс. канд. биол. наук. Уфа, 2012. С.13.
Gaiero J.R., McCall C.A., Thompson K.A., Day N.J. et al. Inside the Root Microbiome: Bacterial Root Endophytes and Plant Growth Promotion // American Journal of Botany. 2013. V.100. N 9. P.1738–1750.
Gorski L., Duhe J.M., Flaherty D. The Use of Flagella and Motility for Plant Colonization and Fitness by Different Strains of the Foodborne Pathogen *Listeria monocytogenes* // PLOS 2009. V.4. N 4. e5142.
Haridoim P.R., van Overbeek L.S., Berg G., Pirttilä A.M. et al. The Hidden World within Plants: Ecological and Evolutionary Considerations for Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 175–176
- Defining Functioning of Microbial Endophytes // Microbiology and Molecular Biology Reviews 2015. V. 79. N 3. P.293–320.
Hyde K. D., Soyton K. The Fungal Endophyte Dilemma. // Fungal Diversity. 2008. V. 33. P.163–173.
Kenichi Tsuchiya. Development of the Biological Control Method of the Difficulty Prevention Plant Blight using the Function of Plant Endophytic Bacteria. 2009. <http://catalog.lib.kyushu-u.ac.jp/en/recordID/51769?hit=1&caller=xc-search> (15.02. 2016)
Xicohtencatl-Cortes J., Chaco E.S., Saldan Z., Freer E. et al. Interaction of *Escherichia coli* O157:H7 with Leafy Green Produce // Journal of Food Protection. 2009. V. 72. N 3. P.1531–1537.

TO THE TERM «ENDOPHYTIC BACTERIA»

R.M. Khairullin, E.R. Sarvarova

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, molgen@anrb.ru

On the basis of experimental work and theoretical studies the definition of the term «endophytic bacteria» is proposed.

УДК 577.29

ПОИСК клТ-ДНК В РАСТИТЕЛЬНОМ ГЕНОМЕ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ПОЛНОГЕНОМНОГО ВЫРАВНИВАНИЯ

Г.В. Хафизова, П.В. Добрынин, Т.В. Матвеева

Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия, galina.khafizova@gmail.com

Полногеномное выравнивание, примененное для последовательностей плазмиды pRi1724 агробактерии *Agrobacterium rhizogenes* Riker и генома *Nicotiana tomentosiformis* Linnaeus, позволило выявить в растительном геноме несколько вставок клТ-ДНК (ТА и ТС), а также отдельные фрагменты последовательностей, гомологичных агробактериальным (*orf20/mis* и др.). Для сборки данных фрагментов в единый регион необходимо использование дополнительных методов, таких как ПЦР, однако использование полногеномного выравнивания в качестве прескрининга позволяет значительно сократить ресурсозатраты на проведение дальнейшего анализа, поскольку оно позволяет при наличии минимума исходных данных получить информацию не только о наличии в растительном геноме последовательностей, гомологичных агробактериальным, но и о взаиморасположении фрагментов данных последовательностей, и в некоторых случаях – идентифицировать сайт локализации вставки в растительном геноме, что важно для анализа данных вставок.

Ключевые слова: горизонтальный перенос генов, агробактерии, Т-ДНК, *Nicotiana*.

клТ-ДНК – это последовательности, гомологичные Т-ДНК агробактерий, приобретенные растениями в результате горизонтального переноса генов. Первая клТ-ДНК была найдена в геноме *Nicotiana glauca* Graham [White et al., 1983], позже подобные последовательности нашли в геномах ряда других видов рода *Nicotiana* [Intrieri M.C., Buiatti M. 2001; Suzuki et al., 2002], а также родов *Linaria* Miller [Matveeva et al., 2012], и *Ipomoea* Linnaeus [Kyndt, Jarret, et al., 2015]. В геномах разных видов вставки клТ-ДНК различаются по составу, копииности, и по сайтам локализации [Chen et al., 2014]. В данном исследовании проведена оптимизация метода анализа данных геномного секвенирования для исследования клТ-ДНК.

Для проведения полногеномного выравнивания использовали программу LASTZ. Выравнивали скафолды *Nicotiana tomentosiformis* L. и *Nicotiana sylvestris* Speg. et Comes против последовательности плазмиды pRi1724 штамма *Agrobacterium rhizogenes* 1724 Riker (AP002086.1). Все растительные последовательности брали с ftp сервера сайта <http://www.plantgdb.org/>). Выравнивание производили со стандартными параметрами: командой вида – lastz Plasmid.fasta Genome.fasta –chain --format=maf. Результат выравнивания хранился в файле формата MAF. Для работы с MAF файлами был написан скрипт на Python. Заданный параметр минимального сходства – 65%. Визуализацию результатов производили с помощью программы Circos.

В результате проведенного выравнивания для последовательностей *Nicotiana sylvestris* Speg. et Comes и pRi1724 не было обнаружено значимых совпадений, что согласуется с данными об отсутствии клТ-ДНК в геноме *Nicotiana sylvestris* Speg. et Comes [Intrieri, Buiatti, 2001]. В результате выравнивания последовательностей *Nicotiana tomentosiformis* L. на плазмиду был найден участок вставки, который включает последовательности, гомологичные агробактериальным генам *orf18(orf13 in T-DNA)*, *orf19(orf14 in T-DNA)*, *orf20(mis)* – по центру вставки, и их же в инвертированной ориентации. Данная вставка совпадает по строению со вставкой ТА. Считается, что часть ТА была приобретена от штамма 1724. Также была найдена вставка, полностью совпадающая по своему составу с описанной вставкой ТС. В ее центре находятся последовательности, гомологичные гену *rolB* в их прямой и инвер-

тированной ориентации относительно того, как они расположены на плазмиде. Далее следуют последовательности, гомологичные агробактериальным генам *rolA*, *orf13(orf8 in T-DNA)*, *orf12(orf3 in T-DNA)*, и часть последовательности, гомологичной гену *orf11(orf2 in T-DNA)*. Предполагается, что вставка ТС была получена в результате горизонтального переноса от штамма *Agrobacterium rhizogenes* A4 Riker, однако благодаря высокому сходству нуклеотидных последовательностей онкогенов штамма А4 и штамма 1724, нам удалось идентифицировать вставку ТС в геноме *Nicotiana tomentosiformis* L. при выравнивании на плазмиду штамма 1724. Помимо фрагментов, объединенных в протяженные регионы, также были найдены отдельные фрагменты, объединить которые в единый регион можно с помощью таких методов молекулярной биологии, как ПЦР. Анализ данных фрагментов указывает на наличие в растительном геноме последовательностей, гомологичных гену *orf20(mis)*, помимо тех, что вошли в состав вставки ТА. По-видимому, это участки вставки ТВ. Считается, что часть этой вставки, включающая ген микимопинсинтазы, происходит от штамма 1724. Группой Chen и др. для поиска вставок был использован другой подход – применение алгоритма локального выравнивания BLAST, с дальнейшим подбором праймеров и восстановлением структуры вставки из фрагментов с помощью метода ПЦР. С использованием метода полногеномного выравнивания было найдено 2 вставки клТ-ДНК, несущие последовательности, и набор отдельных фрагментов, для сборки которых в единый регион также потребуется использование ПЦР. Однако использование полногеномного выравнивания позволяет получить больше информации о взаиморасположении фрагментов, гомологичных агробактериальным, в геноме растения, что сильно облегчает дальнейшую задачу сборки последовательности вставки клТ-ДНК.

Итак, использование метода полногеномного выравнивания для поиска клТ-ДНК в растительном геноме позволяет проводить скрининг при наличии минимальных исходных данных – набор скафолдов растительного генома и последовательность плазмиды агробактерии. Предложенный нами метод позволяет сэкономить время и другие ресурсы, расходующиеся на проведение молекулярно-генетических экспериментов. С помощью метода полногеномного выравнивания можно идентифицировать

последовательности, гомологичные агробактериальным, и для некоторых случаях – взаимолокализовать их, собирая в единый регион, что было показано на примере вставок ТА и ТС в геноме *Nicotiana tomentosiformis* L.

Данная работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-16-10010.

Библиографический список (References)

Chen K., Dorlhac de Borne F., Szegedi E., Otten L., Deep sequencing of the ancestral tobacco species *Nicotiana tomentosiformis* reveals multiple T-DNA inserts and a complex evolutionary history of natural transformation in the genus *Nicotiana*, *Plant Journal*, 2014. V.80. N.4. P.669–682.
 Intriери M.C., Buiatti M., The horizontal transfer of *Agrobacterium rhizogenes* genes and the evolution of the genus *Nicotiana*, *Molecular Phylogenetics and evolution*, 2001. V.20. P. 100–110.
 Kyndt T., Quispe D., Hong Zhai, Jarret R., Ghislain M., Liu Q., Gheysen G., and Jan F. Kreuze, The genome of cultivated sweet potato contains *Agrobacterium* T-DNAs with expressed genes: An example of a naturally transgenic food crop, *PNAS*, 2015. V.112. N.18. P.5844–5849.

Matveeva T.V., Bogomaz D.I., Pavlova O.A., Nester E.W., Lutova L.A. Horizontal Gene Transfer from Genus *Agrobacterium* to the Plant *Linaria* in Nature, *MPMI*, 2012. V.25. N.12. P.1542–1551.
 Suzuki K, Yamashita I., Tanaka N., Tobacco plants were transformed by *Agrobacterium rhizogenes* infection during their evolution, *Plant Journal*, 2002. V.32. N.5. P.775–787.
 White F.F., Garfinkel D.J., Huffman G.A., Gordon M.P., and Nester E.W., Sequence homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants, *Nature*, 1983. N.301. P.348–350.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 177–178

SEARCH OF cT-DNA IN PLANT'S GENOMES THROUGH WHOLE-GENOME ALIGNMENT

G.V. Khafizova, P.V. Dobrynin, T.V. Matveeva

Saint Petersburg State University, galina.khafizova@gmail.com

Using the method of whole-genome alignment applied to the sequences of plasmid pRi1724 of *Agrobacterium rhizogenes* Riker and *Nicotiana tomentosiformis* Linnaeus, several inserts of cT-DNA (TA, TC) were detected in the plant genome, as well as fragments of sequences homologous to *Agrobacterium*'s (*orf20/mis* et al.). To assemble the fragments into a region it is necessary to use other methods, such as PCR. Application of whole-genome alignment as pre-screening method significantly reduces resource consumption for further analysis. Having minimum of input data it allows to obtain information not only about the presence in the plant genome sequences homologous to *Agrobacterium*, but also the mutual arrangement of fragments of these sequences, and in some cases it lets to identify the site of localization of the insert in the plant genome that is important for the analysis of the inserts.

УДК 635.13:631.11

УСТОЙЧИВОСТЬ МОРКОВИ К БОЛЕЗНЯМ ПРИ ХРАНЕНИИ

Т.В. Хмелинская, Л.В. Ермолаева

Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия, ermolaeva.larisavir@yandex.ru

Выявлены основные болезни моркови, поражающие ее при хранении. Всего исследовано 150 коллекционных образцов, которые после уборки коллекции помещали в холодильные камеры. Установлено, что основной вред причиняют черная и белая гнили, а фомоз, серая и мокрая бактериальная гнили менее вредоносны. Выделены источники комплексной устойчивости к болезням при хранении корнеплодов: Danvers Half Long (вр. к-1730, США), F1 Mango (вр. к-2517, Нидерланды), Rotherz (к-2632, Венгрия), Местная (к-1652, Литва), Местная (вр. к-1954, Россия), Красная длинная (вр. к -2567, Россия), Королева осени (вр. к-2565, Россия), которые можно использовать для селекции новых сортов.

Ключевые слова: морковь, *Alternaria radicina*, *Sclerotinia libertiana*, источники устойчивости.

Морковь – ценный диетический продукт, который можно использовать в пищу круглый год. К сожалению, при хранении корнеплоды поражаются различными возбудителями болезней, снижающими не только качество, но и нередко вызывающими гибель хранимой моркови. Поэтому необходимы новые сорта, устойчивые к комплексу болезней. В селекции моркови особенно эффективно использование в качестве исходного материала образцов различного географического происхождения. Ведущая роль при этом принадлежит коллекции генетических ресурсов моркови Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). Наследственное разнообразие моркови достаточно широко. Коллекция моркови включает 8 сортоформ – Нантская, Шантенэ, Берликумер, Амстердамская, Амагер, Валерия, Грело, Геранда, что позволяет выявить новые источники ценных хозяйственно-биологических признаков.

Лежкость (сохранность) корнеплодов и зараженность ее болезнями при длительном хранении (220–250 дней) анализировали в холодильных камерах ВИР с 2000 по 2015 гг. Всего исследовали 150 образцов. Оценку устойчивости к болезням осуществляли по шкале ВИР [Сазонова, Власова, 1990]: поражение отсутствует – 0; поражено до 10% поверхности корнеплода, симптомы и спороношение слабые – 1; поражено до 25% поверхности, симптомы типичные, спороношение умеренное – 2; поражено до 50% поверхности, симптомы ярко выраженные, спороношение типичное – 3; поражено свыше 50% поверхности, симптомы типичные, сильно выраженные, с частичными некрозами, спороношение обильное – 4. К устойчивым относили образцы с поражением корнеплодов не выше одного балла, среднеустойчивым – с поражением 2 балла, неустойчивым – 3–4 балла.

Выявлены основные болезни моркови при хранении: черная сухая гниль (альтернариоз) (возбудитель – *Alternaria radicina* M., D. et E.), белая гниль (*Sclerotinia libertiana* Fuck.), фомоз (*Phoma rostrupii* Sacc.), серая гниль (*Botrytis cinerea* Pers.), фузариоз (*Fusarium spp.*) и мокрая бактериальная гниль (*Erinia carotovora* (Jon.) Holl.) [Хохряков и др., 2003].

Во все годы испытаний ведущая роль в патогенезе принадлежала альтернариозу. Распространенность его в годы изучения колебалась в среднем от 20.1% до 50.2%, а развитие – от 13.2 до 39.5%. Распространенность белой гнили несколько меньше: от 15.1 до 30.2%, а развитие – от 5.3 до 20.4%. Частота серой и фомозной гнилей была значительно ниже: распространенность их не превышала в среднем 11%, а развитие – 9%. Бактериальная гниль, а также фузариоз встречались редко.

Выделили источники устойчивости к наиболее экономически значимым болезням хранения корнеплодов – альтернариозу и белой гнили, а также к комплексу возбудителей болезней. Среди 150 изученных сортов и гибридов моркови 7 образцов оказались устойчивыми к альтернариозу: Feonia (к-2406, Дания), Suko (к-2561, Великобритания), Royal Chantenay (к-2707, Ботсвана), F₁ Flaxton (к-2733, Нидерланды), Местная (вр.к-1653, Россия), All season Cros. (вр.к-2661, Япония), De Shantenay a cjuer rouge (вр. к-1916, Франция). Устойчивы к белой гнили 3 образ-

ца: Rotherz (к-2632, Венгрия), Местная (к-1598, Украина), F1 Senator (вр. к-2539, Франция). Комплексной устойчивостью к болезням характеризовались 7 образцов: Danvers Half Long (вр. к-1730, США), F1 Mango (вр. к-2517, Нидерланды), Rotherz (к-2632, Венгрия), Местная (к-1652, Литва), Местная (вр. к-1954, Россия), Красная длинная (вр. к-2567, Россия), Королева осени (вр. к-2565, Россия).

Установлено, что из двух подвидов моркови (*Daucus carota* L.) – западного (*occidentalis*) и восточного (*orientalis*) – устойчивые образцы наиболее часто встречаются в западном подвиде. Внутри представителей западного подвида практически устойчивые образцы чаще относятся к сортотипам Нантская, Шантенэ, Амагер. В сортотипах Берликумер, Амстердамская и Валерия устойчивых форм меньше, еще меньше их среди разнообразия белой и желтой моркови западного подвида.

Необходимо добавить, что и в полевых условиях наиболее вредоносна бурая пятнистость, вызываемая грибами *A. radicina* M., D. et E. и *A. dauci* Ell. et Lang. В свою очередь корнеплоды, зараженные в поле, хранятся еще хуже. Отмечена устойчивость к бурой пятнистости следующих образцов: Flakker Mars (вр. к-1904, Италия), Bolero (вр. к-2534, Япония), Lunga rossa (к-2188, Италия), Juator (к-2440, Германия), Гавриловская (к-1929, Украина).

Выявленные источники устойчивости к заболеваниям можно использовать для селекции новых сортов моркови.

Библиографический список (References)

Сазонова Л.В., Власова Э.А. Корнеплодные растения: морковь, сельдерей, петрушка, пастернак, редис, редька. Л.: Агропромиздат, 1990. 350 с.

Хохряков М.К., Доброзракова Т.Л., Степанов К.М., Летова М.Ф. Определитель болезней растений. СПб.: Лань, 2003. С. 350–354.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 178–179

CARROT DISEASE RESISTANCE DURING STORAGE

T.V. Khmelinskaya, L.V. Ermolaeva

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources

The main diseases damaging carrot during storage were revealed. Overall 1500 collection accessions which have been placed into cool chambers were investigated. Black and white rots have been shown to be the most harmful whereas phomosis, grey and soft bacterial rots are less deleterious. The complex sources of disease resistance during root storage perspective for breeding new effective varieties were selected. These are Danvers Half Long (tmp. k-1730, USA), F1 Mango (tmp. k-2517, Netherland), Rotherz (k-2632, Hungary), Mestnaya (k-1652, Lithuania), mestnaya (tmp. k-1954, Russia), Krasnaya dlinnaya (tmp. k-2567, Russia), Koroleva oseni (tmp. k-2565, Russia).

УДК 577.152.3

ПРИРОДНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ИЗ РАСТЕНИЙ СОИ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЭКЗОПРОТЕИНАЗАМИ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *FUSARIUM*

А.Н. Чебан, Т.И. Щербакова, А.Б. Будак

Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова, sebanan@rambler.ru

Изучена величина ингибирующего действия белков семян сои у сортов различного происхождения – Irina и Hodgson. У экзопроотеиназ, секретированных в жидкую культуральную среду Чапека, пятью видами рода *Fusarium* – *F.oxysporum*, *F.verticillioides*, *F. equiseti*, *F.cultorum*, *Microdochium nivale*, экзопроотеолитическая активность подавляется белками-ингибиторами из генотипов сои Irina и Hodgson с различной величиной (в качестве субстрата – казеин по Гаммерстену). Грибы рода *Fusarium* проявляют различную экзопроотеолитическую активность, что может указывать на разную степень связывания комплекса экзопроотеиназа-ингибитор в защитном механизме растений при патогенезе.

Ключевые слова: соя, семена, белки, ингибиторы, экзопроотеиназы, фузариум, протеолитическая активность.

Впервые ингибирующее действие белков растений на протеазу пищеварительного тракта было выявлено в сое в 1938 году [Read, Haas, 1938], а 1944 году из экстракта муки сои очищен ингибитор трипсина [Ham, Sandstedt, 1944] и

кристаллизован [Kunitz, 1945]. Следующий белковый ингибитор трипсина из сои был выделен Бирком [Bowman, 1946; Birk, et al, 1963]. Ингибиторы протеаз взаимодействуют с целевой протеазой в каталитическом домене, формируя,

стабильный протеазо-ингибиторный комплекс и протеазы переходят в неактивное состояние [Laskowski и Kato, 1980; Norton, 1991], тогда как грибы определенных видов обладают способностью синтезировать экзо-протеиназы, что проявляется в их способности биохимически взаимодействовать с растением-хозяином.

В качестве объекта исследования взяты 2 сорта сои различного происхождения – Irina и Hodgson. Из семян были выделены белки-ингибиторы подавляющие активность экзопроотеиназ микроорганизмов, а о величине ингибиторной активности белков-ингибиторов судили по величине остаточной протеолитической активности экзопроотеиназ [Чебан и соавт., 2013]. Также, в исследовании использовали экзопроотеиназы, которые были секретированы в жидкую культуральную среду Чапека [Кирай и соавт., 1974] пятью видами грибов рода *Fusarium* – это *F.oxysporum* Schlechtend. Fr., *F.verticillioides* (Sacc) Nirenberg, *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc, *F.culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc., *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett, при выращивании их на 23–25 °C в течение 40 суток. В качестве субстрата использовали коммерческий препарат белка – казеин по Гаммерстону. Единицы протеолитической активности экзопроотеиназ, рассчитывали на концентрацию 1 мг экзо-белка, секретированного в культуральную среду произрастания микроорганизмов.

Экзо-белки у видов *F. equiseti* и *F.oxysporum* имеют экзопроотеолитическую активность одного уровня (4.8023ед. акт-ти и 4.3521ед. акт-ти), несколько ниже она у видов *F.culmorum* – 3.3200 ед. акт-ти и *M. nivale* – 3.2221 ед. акт-ти. У вида *F. verticillioides* она составляет всего 1.4425 ед. акт-ти, что в два раза ниже, чем у видов *F.culmorum* и *M. nivale*, а также почти в три раза ниже величин активности у видов *F. equiseti* и *F.oxysporum* (табл.). Не исключено, что у *F. verticillioides* могут синтезироваться экзопроотеиназы по своим физико-химическим свойствам отличающихся от экзопроотеиназ остальных видов *Fusarium*. Активность экзопроотеиназ из *F. equiseti* подавлялась на 58.98% белками-ингибиторами сорта Irina, на 64.81% сорта Hodgson, а *F.oxysporum* на 59.90% и на 65.48% соответственно (табл.). Белки-ингибиторы сорта Hodgson по активности превыша-

Таблица. Ингибирование протеолитической активности экзопроотеиназ микроорганизмов рода *Fusarium* белками-ингибиторами из семян разных генотипов сои

Наименование вида микроорганизма	Единиц протеолитической активности в 1мг экзобелков	Наименование генотипа сои	
		Irina	Hodgson
		Ингибирование экзопроотеолитической активности, %	
<i>F. equiseti</i>	4.8023	58.98	64.81
<i>F.oxysporum</i>	4.3521	59.90	65.48
<i>F.culmorum</i>	3.3200	64.22	72.79
<i>M. nivale</i>	3.2221	84.65	67.60
<i>F. verticillioides</i>	1.4425	29.81	15.47

ют на 6.0% таковую у сорта Irina по отношению к экзопроотеиназ из микроорганизмов вида *F. equiseti* и *F.oxysporum*.

Активность белков-ингибиторов из генотипа Irina выше на 5.0–20.0%, а из Hodgson на 3.0–7.0% относительно экзопроотеаз грибов *F.culmorum* и *M. nivale*, чем у экзопроотеиназ *F. equiseti* и *F.oxysporum*. Скорее всего, у этих 4-х видов секретируются однотипные экзопроотеиназы и их протеолитические активности сопоставимы между собой, так же как и белки-ингибиторы из сои, подавляющие их экзопроотеолитическую активность. Ингибирование активности экзопроотеиназ, секретированных в среду обитания видом *F. verticillioides* намного ниже, чем у остальных четырех видов и составляет всего 29.81% для белков-ингибиторов из сорта Irina, а из Hodgson всего 15.47%, что указывает на факт существования различных изоформ экзопроотеиназ, секретлируемых в среду обитания разными видами рода *Fusarium*. Разные изоформы экзопроотеиназ с различными физико-химическими свойствами могут определять и специфику биохимических взаимодействий с растением-хозяином. Поэтому, в ходе селекционных программ по выведению новых сортов растений, наверное, было бы целесообразным проводить скрининг получаемых новых форм на наличие и величину содержания белков-ингибиторов в них. Следует иметь в виду, что растения, предназначенные на корм животным без термообработки должны содержать минимальное количество белков-ингибиторов, так как от их избытка страдают внутренние органы и у животных снижаются привесы массы тела.

Библиографический список (References)

- Кирай З., Клемент З., Шоймоши Ф., Вереш Й. Методы фитопатологии. Изд-во М.: Колос. 1974. 344 с.
- Чебан А.Н., Лупашку Г.А., Будак А.К. Изучение активности белковых ингибиторов из семян генотипов сои генетической коллекции ex situ относительно экзопроотеаз из патогена *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) snyderi Hans. Proceedings of the 1st International Conference: Non-Traditional, New and Forgone Plant Species: Scientific and Practical Aspects of Cultivation, 10–12 September 2013. – Kyiv: «Knigonosha». 2013. P. 444–447. ISBN 978-966-2615-57-9 H 57
- Birk Y., Gertler A., Khalef S. A pure trypsin inhibitor from soya beans // Biochem J. V. 87. 1963. P. 281–284.
- Bowman D.E. Differentiation of soy bean antitryptic factors // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. V. 63. 1946. P. 547–550.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 179–181
- Ham W. E., Sandstedt R. M. A proteolytic inhibitory substance in the extract from unheated soybean meal // J. Biol. Chem. 154. 1944. P. 505–506.
- Kunitz, M. Crystallization of a trypsin inhibitor from soybeans // Science. 1945. V.101. P. 668–669.
- Laskowski M. JR, KATO I. Protein inhibitors of proteinases // Annu. Rev. Biochem. 1980. V.49. P. 593–626.
- Norton G. Proteinase inhibitors. In: D’Mello, J. P. F.; Duffus, C. M.; Duffus, J. H., eds. Toxic substances in crop plants. Cambridge: Royal Society of Chemistry. 1991. P. 68–106.
- Read J. W., Haas, L. W. Studies on the baking quality of flour as affected by certain enzyme actions. V. Further studies concerning potassiumbromate and enzyme activity // Cereal Chem. 1938. V.15. P. 59–68

NATURAL INHIBITORS FROM SOYBEAN AND THEIR INTERACTION WITH EXOPROTEINASES PRODUCED BY MICROORGANISMS FROM GENUS *FUSARIUM*

A.N. Cheban, T.I. Scerbacova, A.B. Budac

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, cebanan@rambler.ru

The data about the rate of inhibitory activity of the protein inhibitors, extracted from the seeds of two soybean genotypes of the different origin – Irina and Hodgson, are presented. Protein inhibitors, extracted from the soybean suppressed the proteolytic activity of the exoproteinas (amount of the exo-proteins in the medium – 1mg/ml), which were secreted in the culture medium

Chapek by microorganisms from the genus *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *F. equiseti*, *F. culmorum* Sacc., *M. nivale*). Protein inhibitors from the seeds var. Hodgson demonstrated activity to the exoproteinas of the different microorganisms' species, which varied from 15.9 to 72.8%. The inhibitory activity of the proteins extracted from the seeds var. Irina was 29.8–84.7%. This indicates their different degree of binding in the enzyme-inhibitor complex, which is the important element that forms the protective mechanism to the different kinds of stresses in the plants. The rate of the inhibitory activity was judged by the size of the residual proteolytic activity of the microorganisms' exoproteinas (the substrate was casein Hammerstein).

УДК 632.4.01/08

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ Т-2 ТОКСИНА ГРИБОМ *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES*

К.В. Чередова^{1,2}, А.А. Скрытнич², О.П. Гаврилова¹, Т.Ю. Гагкаева¹

¹Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, t.gagkaeva@mail.ru

²Санкт-Петербургский государственный технологический институт, Санкт-Петербург, Россия

В модельных экспериментах проведена оценка влияния на рост и токсинообразование штамма гриба *Fusarium sporotrichioides* Sherb. кислотности питательной среды и совместного культивирования со штаммом *Bacillus cereus*. Показано, что рост гриба не изменялся при разных значениях pH, но низкие значения кислотности среды стимулировали образование Т-2 токсина. При совместном культивировании с *B. cereus* вес воздушно-сухой биомассы гриба *F. sporotrichioides* увеличивался, однако выявлено существенное ингибирование токсинообразования гриба.

Ключевые слова: *Fusarium sporotrichioides*, *Bacillus cereus*, pH, биомасса, Т-2 токсин.

Каждый вид гриба обладает генетически детерминированной способностью образовывать спектр определенных вторичных метаболитов, в том числе микотоксинов. Множество факторов, в том числе условия среды существования организма (химические, физические, биологические), способны радикально влиять на реализацию этой функции. Провели исследования по оценке влияния кислотности питательной среды (pH) и штамма *Bacillus cereus* на рост и токсинообразование штамма гриба *Fusarium sporotrichioides* Sherb.

Штамм *F. sporotrichioides* выращивали методом глубинного культивирования в 50 мл среды Чапека (24 °С)

и оценивали влияние кислотности питательной среды на образование биомассы гриба. При исходных значениях pH среды 4.0, 5.5, 7.0 и 8.5 отмечали изменения этого показателя в сторону нейтральной кислотности, а через 10 суток разница между pH во всех вариантах стала несущественной и варьировала в пределах 7.77–7.83. (рис.). В то же время, биомасса гриба к 10-м суткам культивирования в вариантах с различной исходной pH среды была сходной. Выявили закономерность, что количество образуемого Т-2 токсина было выше в вариантах с низкими значениями pH и наоборот – максимальное накопление этого микотоксина отмечено при pH 4.0, а минимальное – при pH 8.5 (табл.).

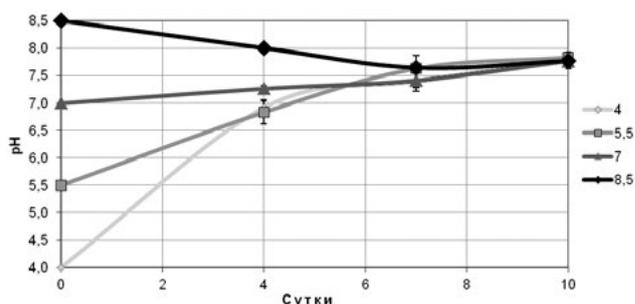


Рисунок. Изменение pH среды Чапека в процессе культивирования *F. sporotrichioides* (50 мл среды, 10 суток)

Таблица. Изменение биомассы и количества Т-2 токсина при культивировании штамма *F. sporotrichioides* на среде Чапека различной pH (10 суток)

Оцениваемый показатель	pH 4.0	pH 5.5	pH 7.0	pH 8.5
Сухая биомасса, мг/мл	6.8±0.8	6.0±0.8	6.4	6.0±0.6
Т-2 токсин, нг/мл	113.44±7.48	15.51±0.65	8.97±0.08	3.43±1.12

Оценку влияния *B. cereus* на рост и токсинообразование гриба *F. sporotrichioides* проводили при их совместном глубинном культивировании в 50 мл среды Чапека с добавлением 0.2% панкреатического гидролизата рыбной муки (24 °С). Выявили, что при культивировании гриба в отдельности (контроль) и в сочетании с *B. cereus* исходная кислотность среды (6.8) в обоих случаях сначала уменьшалась до 4.6–6.0, а затем экспоненциально росла и выходила на плато на уровне значений 8.1–8.4. Вес воздушно-сухой биомассы гриба *F. sporotrichioides*, полученной при совместном культивировании с *B. cereus*, был на 66% выше полученной в контрольном варианте. Уже на 4 сутки совместного культивирования гриба со штаммом бактерии наблюдали 100% снижение количества Т-2 токсина в культуральной жидкости. В контроле на 4–10 сутки культивирования количество Т-2 токсина, образуемое *F.*

sporotrichioides, не изменялось и варьировало в пределах 1000–1240 нг/мл.

Чем комфортнее условия для роста гриба, тем меньше у него потребность в оптимизации условий среды, в том числе за счет образования вторичных метаболитов [Audenaert et al., 2013]. Таким образом, агрессивные условия среды, такие как, например, пониженная кислотность субстрата, могут приводить к многократному увеличению образуемых микотоксинов. Сопутствующая в окружающей среде микробиота может существенно влиять на процесс токсинообразования грибов. Использование биологических методов ограничения вредоносности токсинопродуцирующих видов грибов является экологически оправданным путём получения качественного конечного продукта.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект №14-16-00114).

Библиографический список (References)

Audenaert K., Vanheule A., Höfte M., Haesaert G. Deoxynivalenol: a major player in the multifaceted response of *Fusarium* to its environment// Toxins. 2013. V.6. P. 1–19.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 181–182

INFLUENCE OF FACTORS OF MEDIUM COMPOSITION ON THE GROWTH AND T-2 TOXIN PRODUCTION BY *FUSARIUM SPOROTRICHIOIDES*

K.V. Cheredova^{1,2}, A.A. Skritnik², O.P. Gavrilova¹, T.Yu. Gagkaeva¹

¹All-Russian Institute of Plant Protection, t.gagkaeva@mail.ru

²Saint-Petersburg State Institute of Technology

The effects of culture conditions (pH) and competitive cultivation with *B. cereus* on mycelial growth and metabolite ability to produce T-2 toxin of *Fusarium sporotrichioides* Sherb. were investigated. After 10 days of *F. sporotrichioides* on the liquid Czapek medium with the different initial pH values ranged from 4.0 till 8.5, the pH value of the growing medium reached 7.8. It was revealed that under the lower pH value the toxin production activity of the fungus was increase significantly, but the differences in yields of fungal biomass were not found. After submerged cultivated of *F. sporotrichioides* together with *B. cereus* for 10 days the biomass yields of fungus was increased on 66% as compared with the control. Under these conditions the co-cultures of *F. sporotrichioides* with *B. cereus* resulted in 100% reduction of T-2 formation already on 4th day. The better understanding of the environmental and cropping factors and the interaction between the representatives of plant mycobiota could contribute towards reducing the potential risk of the contaminated feed to the animal health.

УДК 58.071:579.26

ВЫЯВЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ПОБЕГОВ *MALUS TRANSITORIA* (BATAL.) SCHNEID. *IN VITRO*

О.А. Чурикова, А.С. Сперанская, А.А. Криницына

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ochurikova@yandex.ru

В побегах *Malus transitoria* (Batal.) Schneid. из коллекции Ботанического сада МГУ имени М.В. Ломоносова были обнаружены бактериальные сообщества, основная часть которых (95–97%) представлена бактериями рода *Paenibacillus*, *Methylobacterium* (1%) и *Chitinophaga* (0.6%). Побеги культивировали в стерильных условиях с 2011 года.

Ключевые слова: эндофитная флора, *Malus transitoria*, культура *in vitro*.

Эндофитные бактерии обнаруживаются на семенах, в филлосфере и ризосфере растений и выполняют ряд важных функций. Так, они могут участвовать в защите растений от заболеваний, обусловленных различными фитопатогенами, насекомыми и нематодами, в усвоении азота и синтезе биологически активных веществ, в том числе, фитогормонов и витаминов, в защите растения-хозяина от вредного воздействия катионов тяжелых металлов и радионуклеидов. Жизнедеятельность эндофитных бактерий не всегда отражается на внешнем виде и состоянии растений, однако, несомненно, влияет на развитие последних. Адаптивный потенциал растений в значительной степени определяется комплексом их взаимодействий с симбиотическими микроорганизмами. Наличие генетически и функционально разнородного микробиоценоза позволяет растению компенсировать отсутствие многих адаптивно важных биохимических функций [Тихонович, Проворов, 2003].

Бактериальные эндофиты были и остаются предметом многочисленных исследований. В настоящее время накоплено некоторое количество информации о видовом составе эндофитной микрофлоры растений различных систематических групп, имеющих важное значение для сельского хозяйства [Rosenblueth, Martinez-Romero, 2006]. Например, в почках культурных яблонь сортов “Gala”, “Golden Delicious” и “Orlovim” были обнаружены культивируемые эндофитные бактерии, относящиеся к *Curtobacterium*,

Pantoea и *Pseudomonas*, которые участвуют в формировании устойчивости к патогенным бактериями, вызывающим паршу [Miliute et al., 2016].

Роль эндофитных бактерий в культуре тканей менее изучена, однако, они представляют значительный интерес как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте. Эндофитные бактерии, в частности, рассматриваются в качестве одного из факторов, определяющего регенерационную способность эксплантов наряду с генотипом и условиями культивирования *in vitro* [Pirttila et al., 2008].

Целью настоящей работы являлось определение состава бактериального сообщества, развивающегося на питательной среде при культивировании побегов яблони в стерильных условиях. В нашей работе была использована яблоня переходная (*Malus transitoria* (Batal.) Schneid.) из коллекции Ботанического Сада МГУ имени М.В. Ломоносова на Ленинских горах, культивируемая в стерильных условиях с 2011 года. Методика микроклонального размножения яблони, включая выбор эксплантов, их предстерилизационную обработку, собственно стерилизацию, а также прописи состава питательных сред и условия культивирования эксплантов, подробно была описана ранее [Чурикова, Мурашев, 2015].

Развитие бактериального сообщества периодически визуально отмечалось на поверхности и в толще питательной среды в месте контакта с раневой поверхностью побега при проведении пассирования культивируемых

растений. Выделение тотальной ДНК из клеток бактерий проводили согласно [Park, 2007]. Пробоподготовку для проведения высокопроизводительного секвенирования участка гена 16S rRNA осуществляли согласно протоколу Illumina. ПЦР проводили при помощи T100 ThermalCycler (“Bio-Rad”, США), секвенирование – на MiSeq (Illumina). Полученные результаты обрабатывали с помощью сервиса “The metagenomics RAST” (<http://metagenomics.anl.gov>) [Meyer et al. 2008].

Всего было проанализировано два независимых бактериальных сообщества. В обоих основным представителем оказались бактерии рода *Paenibacillus* (95.2% и 97.3%). Также в одном из них были обнаружены бактерии, отно-

сящие к родам *Methylobacterium* (1%) и *Chitinophaga* (0.6%). Остальные полученные последовательности оказались не пригодны для идентификации, поскольку сходных последовательностей не представлено в базе данных РНК (M5RNA) используемого сервиса.

Наличие в побегах бактерий рода *Paenibacillus* и *Methylobacterium* было обнаружено у таких древесных растений, как сосна, кофе и тополь. При этом было показано, что некоторые штаммы *Paenibacillus* положительно влияют на процессы корнеобразования микропобегов тополя [Ulrich et al., 2008].

Работа была выполнена в рамках гос. темы № ААА-А-А16-116021660105-3.

Библиографический список (References)

Тихонович И.А., Проворов Н.А. Симбиогенетика микробно-растительных взаимодействий // Экологическая генетика. 2003, Т.1. С. 35–46.
Чурикова О.А., Мурашев В.В. Биотехнологические приемы сохранения коллекций яблони *in vivo* и *in vitro* // Вестник КазНУ, серия экологическая. 2015. Т.43 N 1/2. С. 600–606.
Pirttilä A.M., Podolich O., Koskimäki J.J., Hohtola E., Hohtola A. Role of origin and endophyte infection in browning of bud-derived tissue cultures of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2008. 95. P. 47–55.
Rosenblueth M., Martinez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts // MPMI. 2006. V. 19. N 8. P. 827–837.
Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 182–183

Meyer F. Paarmann D., D’Souza M., Olson R., Glass E.M., Kubal M., Paczian T., Rodriguez A., Stevens R., Wilke A., Wilkening J., Edwards R.A. The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes // BMC Bioinformatics. 2008. V. 9. P. 386.
Park D. Protocols for Nucleic Acid Analysis by Nonradioactive Probes, 2007. V.1. P. 3–13.
Ulrich K., Stauber T., Ewald D. Paenibacillus — a predominant endophytic bacterium colonising tissue cultures of woody plants // Plant Cell. Tiss. Organ. Cult. 2008. V.93. P. 347–351.

IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN *MALUS TRANSITORIA* (BATAL.) SCHNEID. SHOOTS GROWING *IN VITRO*

O.A. Churikova, A.S. Speranskaya, A.A. Krinitsina

Lomonosov Moscow State University, ochurikova@yandex.ru

Endophytic bacteria from *Paenibacillus*, *Methylobacterium* and *Chitinophaga* genera were found in the shoots of *Malus transitoria* (Batal.) Schneid. from Moscow State University Botanical garden. The shoots were cultured in sterile conditions from 2011.

УДК 635.634:632.4

ВЫДЕЛЕНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ТОМАТА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К БИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ

О.Н. Шабетя, Н.В. Коцарева

Белгородский аграрный университет им. В.Я. Горина, Белгород, Россия, shabetya14@yandex.ru

В условиях естественного провокационного и искусственного инфекционных фонов нами проведено изучение более 500 коллекционных образцов томата с их последующей дифференциацией по типу и степени устойчивости к возбудителю ранней сухой пятнистости, увяданию грибного происхождения на естественных, провокационных и искусственных фонах, а также против фитофтороза – на фоне природного поражения и на природном провокационном фоне заражения. По результатам исследований сформирована рабочая признаковая коллекция томата по устойчивости против ранней сухой пятнистости и фитофтороза, рабочая признаковая коллекция томата по устойчивости к фузариозу и ранней сухой пятнистости, созданы 2 высокоустойчивые линии томата для использования в селекции на устойчивость к биотическим факторам.

Ключевые слова: томат, устойчивость, фитофтороз, фузариоз, ранняя сухая пятнистость, восприимчивость.

Поиск и внедрение в селекционные программы новых генетических источников устойчивости позволяет оптимизировать и ускорить селекционный процесс, повысить его эффективность, получить новые конкурентоспособные коммерческие сорта и гибриды с признаками устойчивости (толерантности) против вредоносных организмов. Мировой опыт показывает, что методами традиционной селекции не удастся получить сорта с высоким уровнем устойчивости [Фурса, 1983; Черненко, 2006; Сокол, 2011; Черняева, 2011]. При создании и внедрении в производство новых современ-

ных сортов и гибридов томата селекционный процесс должен проходить с использованием мирового генетического потенциала, в частности признаковых коллекций с четко определенным типом и уровнем устойчивости коллекционных образцов и линейного материала [Черненко, 2006]. В связи с этим исследования генофонда овощных растений с целью его иммунологического анализа с последующим поиском и подбором источников устойчивости актуальны и требуют постоянного изучения.

В условиях естественного и искусственного инфекционных фонов нами проведено исследование по изучению коллекции томата с последующей дифференциацией по типу и степени устойчивости. Обобщенные экспериментальные данные в виде признаков коллекций томата, выделенные источники устойчивости и созданные на их основе линии рекомендуются нами к использованию в селекционном процессе.

Исследования предусматривали: определить видовой состав возбудителей болезней и вредителей, их распространенность в агроценозах различных климатических зон; установить характер и уровень устойчивости коллекционных образцов томата в условиях естественного и искусственного инфекционного фонов; провести статистический анализ для выявления наличия или отсутствия генетической дивергенции по устойчивости в популяциях образцов; выявить образцы с индивидуальной, групповой и комплексной устойчивостью к болезням и вредителям, сделать отборы источников устойчивости для дальнейшего получения линейного материала. Исследования проводили в полевых и лабораторно-полевых условиях.

В условиях естественного провокационного и искусственного инфекционных фонов нами проведено изучение более 500 коллекционных образцов томата с их последующей дифференциацией по типу и степени устойчивости к возбудителю ранней сухой пятнистости (*Alternaria solani* Sorauer), увяданию грибного происхождения (*Fusarium oxysporum* f. *Sp. Lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen) на естественных провокационных и искусственных фонах, а также против фитофтороза (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary) – на фоне природного поражения и на природном провокационном фоне заражения согласно грациям по 5-балльной оценке. Выявлена иммунологическая реакция признаков восприимчивости (балл): 9 – высокая устойчивость (Highly resistant или HR), когда признаки болезни отсутствуют; 7 – устойчивость (Resistant или R), пораженность образца составляла до 15.0%; 5 – средняя устойчивость (Moderately resistant или MR), пораженность образца составляла 15.1–35%; 3 – восприимчивость (Susceptible или S), пораженность образца составляла 35.1–50%; 1 – высокая восприимчивость (Highly susceptible или HS), когда пораженность образца составляет более 50%.

По результатам исследований образцов с высокой устойчивостью (HR) к фитофторозу не обнаружено, устойчивыми (R) были несколько среднеранних и ранних образцов с округлой формой плодов (Микадо розовый, к-ИОБ02478, Украина; Микадо розовый, к-ИОБ02470, Украина; Пересвет, к-128/05; Розовый крупный плоский, к-ИОБ02473, Украина; Вспышка, к-ИОБ02492, Украина; Томат к-153/05, Россия). Установлено, что наибольшая доля образцов была восприимчива (S) к фитофторозу – 35.9% образцов с плодами округлой формы и 36.7% образцов с плодами сливовидной формы.

При анализе коллекции образцов томата по устойчивости к ранней сухой пятнистости установлена значительная неоднородность их по степени проявления иммунологических реакций на пораженность растений возбудителем. Степень их поражения сухой пятнистостью (РСП) изменялась от 0% до 90.4%, что соответствует 9–1 баллам сводной иммунологической шкалы СЭВ.

По результатам исследований во время искусственного заражения выделены источники устойчивости томата к ранней сухой пятнистости – 14 образцов с высокой устойчивостью (на уровне балла 9) – Венера, Молдова; Грузинский розовый, Украина; Дтилменс, Молдова; КСВ 03/2, Украина; Мичуринский, Россия; Орбита, Украина; Перцевидный, Украина; Северная красавица, Россия; Сосулька, Россия; Rublia, Нидерланды; S 5, Израиль; Nilo, Mader, США. С устойчивостью на уровне 7 баллов выделено 22 образца. Сформирована коллекция из 68 образцов, дифференцированных по генетически устойчивости к ранней сухой пятнистости в условиях искусственного инфекционного фона. Выявлено, что в условиях естественного инфекционного фона комплексную устойчивость к фитофторозу и ранней сухой пятнистости на уровне балла 7 имели 2 образца (КСВ 03/2, Павлин, Украина) на уровне 5 баллов – 10 образцов. Среди всей выборки высокую индивидуальную устойчивость (балл 7) к фитофторозу отмечали у 6 образцов, среднюю (балл 5) – у 21 образца. По результатам исследований сформирована рабочая признаковая коллекция томата по устойчивости к ранней сухой пятнистости и фитофторозу, рабочая признаковая коллекция томата по признаку устойчивости к фузариозу и ранней сухой пятнистости, созданы 2 высоко устойчивые линии томата для использования в селекции на устойчивость к биотическим факторам.

Библиографический список (References)

- Сокол Т.В. Створення вихідного матеріалу гороху для селекції на стійкість до хвороб // Селекція і насінництво. Харків, 2011. Вип. 100. С. 145–151.
- Фурса Т.Б. Ранняя диагностика устойчивости арбуза к засолению // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 1981. Т. 69. Вып. 2. С. 29–30.
- Черненко В.Л. Методи визначення стійкості овочевих і баштанних культур проти основних хвороб і шкідників // Сучасні методи селекції овочевих і баштанних культур. Харків, 2001. С. 114–188.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 183–185
- Черненко В.Л. Вихідний матеріал томата. Стійкість проти хвороб: перспективи, способи оцінки та результати // Карантин і захист рослин, 2006. № 7. С. 18–22.
- Черненко В.Л. Особливості ураження фітофторозом різних за групою стиглості сортів томата // Овочівництво і баштанництво, 2006. Вип. 52. С. 497–509.
- Черняєва І.М. Створення вихідного матеріалу для селекції пшениці м'якої озимої на стійкість до хвороб // Селекція і насінництво. Харків, 2011. Вип. 100. С. 59–65.

ISOLATION OF THE RAW MATERIAL OF TOMATO FOR RESISTANCE AGAINST BIOTIC FACTORS

H.E. Shabetya, N.V. Kotsareva

V.Y. Gorin Belgorod Agricultural University, shabetya14@yandex.ru

The study of more than 500 collectible tomato samples with their subsequent differentiation according to the type and degree of resistance to the pathogen early dry spot (*Alternaria solani* Sorauer), wilt fungal origin (*Fusarium oxysporum* f. *Sp. Lycopersici* (Sacc.) Snyder & Hansen) on natural provocative and artificial backgrounds, as well as against late blight (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary.) – on the background of natural destruction and natural provocative background contamination according to the

gradations on a 5-point assessment. According to the research work formed indicative of a collection of tomato resistance to early dry spot and late blight, is indicative of a working collection of tomato on the basis of resistance to fusarium and early dry spot, created by 2 highly resistant tomato lines for use in breeding for resistance to biotic factors.

УДК 632.4:579.64

ЗАЩИТА ТОМАТОВ ОТ АЛЬТЕРНАРИОЗА ШТАММАМИ БАКТЕРИЙ РОДА *BACILLUS*

В.Э. Шубина

*Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова,
vshubina969@gmail.com*

В настоящее время одной из актуальных задач сельскохозяйственной микробиологии является разработка эффективных и безопасных препаратов для растениеводства. В связи с расширением использования микробиологических средств защиты растений целью настоящей работы является изучение свойств новых штаммов, продуцирующих биологически активные вещества с широким спектром действия, *Bacillus subtilis* – потенциальных продуцентов биофунгицидов. Антибиотическую активность бактерий определяли методом агаровых блочков по радиусу лизиса тест-культуры фитопатогенного микроорганизма. Эффективность обработки семян томата штаммами *B.subtilis* S2 и S4 определяли в вегетационном опыте на инфекционном фоне и без него. Инфекция вносилась в почву вместе с инфицированными растительными остатками. При инокуляции посевного материала растений антагонистическими штаммами *Bacillus subtilis* отмечено подавление роста фитопатогенов в почве.

Ключевые слова: фунгицидная активность, бактерии-антагонисты, бактеризация семян, инфекционный фон, грибы р. *Alternaria*.

Заболевания, вызванные патогенными микромицетами р. *Alternaria*, приводят к снижению продуктивности и качества томатов. К перспективным экологически безопасным агентам, применяемым для защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов, относятся биопрепараты на основе *Bacillus* Cohn. Поиск таких биорегуляторов для целенаправленного и эффективного использования на томатах остается актуальным.

Как видно из табл. 1, культура *B.subtilis* S2 в своем действии на разные изоляты *A. alternata* в одном случае превышала активность эталона на 28%, а в другом – только на 7%. Против *A. solani* активность была выше на 14% относительно биологического эталона. Бактериальный штамм *B.subtilis* S4 практически показал равные зоны задержки роста с биологическим эталоном 26Д.

Таблица 1. Антагонистическое действие бактерий *Bacillus subtilis* на патогены р. *Alternaria* (радиус зон задержки роста, мм)

Тест-культура	<i>B.subtilis</i> 26D	<i>B.subtilis</i> S2	<i>B.subtilis</i> S4
<i>A. alternata</i> LG	19.7 ± 0.8	21.0 ± 0.0	20.3 ± 0.8
<i>A. alternata</i> 2-14	17.4 ± 0.9	22.3 ± 0.4	19.2 ± 2.1
<i>A. solani</i>	16.9 ± 2.3	19.3 ± 1.4	17.8 ± 1.9

Далее было рассмотрено влияние бактерий на развитие семян томатов. Наибольшее стимулирующее действие на рост корешка показала культура *B.subtilis* S4 в 0.5% концентрации – на 32% относительно контроля. Культура *B.subtilis* S2 в 1% концентрации – на 18% относительно контроля, и биологический эталон *B.subtilis* 26Д – на 21% относительно контроля. Изучение действия метаболитов бактерий на развитие стебелька показало, что явных отличий не наблюдалось, кроме культуры *B.subtilis* S4 в концентрации 0.5%: прирост составил 35% относительно контроля.

В опыте (табл. 2) по изучению влияния бактериальных суспензий на прорастание и развитие проростков семян

томатов было отмечено, что исходные растворы проявляют незначительное тормозящее действие (*B.subtilis* S2 на 21.7%, культуры *B.subtilis* S4 и 26Д на 24%), относительно контроля. На 8-е сутки проведения опыта прослеживалось стимулирующее действие бактерий. Так, в варианте при обработке бактерией *B.subtilis* S2 без инфекционного фона наблюдалось увеличение всхожести в 6 раз относительно контроля (без обработки семян и без инфекционного фона). На 10-е сутки – уже в 2.2 раза, а на появление настоящих листочков – превышало в 5.9 раз, чем в контроле. На 21-е сутки эксперимента разница во всхожести контрольных семян и семян варианта без инфекционного фона с обработкой семян бактерией 2 разница была 1.8%, которая далее не изменялась.

На инфекционном фоне в варианте, где семена не обрабатывались бактериальной суспензией, практически было полное подавление прорастания семян и развития растений. В варианте, где семена обрабатывались бактериальными суспензиями, наблюдалось увеличение всхожести в 11 раз относительно варианта без обработки семян.

Используя метод предельных разведений, при определении наличия микромицетов р. *Alternaria* в почвенных образцах вариантов с внесением в почву бактерий при бактеризации семян фитопатогенов не было обнаружено. Это дает возможность предположить, что исследуемые штаммы бактерий полностью подавляют развитие патогена в почве, проявляя фунгицидное действие и, в то же время, не проявляют токсического влияния на развитие семян и растений томатов.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что штаммы *B.subtilis* S2 и S4 способны ингибировать рост и развитие грибов р. *Alternaria* – возбудителей альтернариоза томатов и одновременно благоприятно влиять на развитие растения.

Таблица 2. Влияние бактеризации семян томатов на их всхожесть в условиях вегетационного опыта в контролируемых условиях

Конц. бакт. суспензии	Количество семян, проросших на данные сутки посева							
	7 сут.	8 сут.	10 сут.	11 сут.	12 сут.	13 сут.	14 сут.	21 сут.
контроль	1	3	12	14/3*	15/6	15/7	15/9	17
Инфекционный фон – изолят <i>Alternaria alternata</i>								
1% – S2	0	5	15	17/5	19/9	20/11	20/15	22
10% – S2	0	1	15	17/3	18/8	18/10	19/16	21
1% – S4	0	3	17	21/2	22/4	22/11	22/14	24
10% – S4	0	2	13	16/1	17/2	17/2	17/9	22
Без обраб.	0	0	0	0	1	1	2	2
Без инфекционного фона								
1% – S2	4	18	27	27/17	27/22	27/26	27/27	29
10% – S2	13	20	27	28/16	30/20	30/25	30/26	30
1% – S4	5	7	20	22/4	23/8	23/8	28/14	30
10% – S4	3	4	14	16/6	17/8	19/4	19/5	25

*число в знаменателе – количество 1-х настоящих листочков

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 185–186

PROTECTION OF TOMATOES AGAINST EARLY BLIGHT BY STRAINS BACTERIA OF THE *BACILLUS SUBTILIS*

V.A. Shubina

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection of ASM, vshubina969@gmail.com

Presently, one of actual problems of agricultural microbiology is the development of effective and safe drugs for the crop. In connection with the increasing usage of microbiological plant protection products the purpose of this paper is to search and to study the properties of new strains producing biologically active substances with a wide spectrum of activity. *Bacillus subtilis* is potential producers of biofungicides. The antibiotic activity of bacteria was determined by the method of agar blocks and zones lyses of test-culture of phytopathogenic microorganism. The efficiency treatment of tomato seeds by strains *B. subtilis* S2 and S4 was determined at a pot's experiment with infectious background, and without it. Infection was introduced into the soil together with the infected plant residues. At inoculation of seeds with antagonistic *Bacillus subtilis* strains we observed the suppression of plant pathogens growth in the soil.

УДК 575.22

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНЕ ВО ВЗРОСЛОМ СОСТОЯНИИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

Ю.В. Шумилов, Г.В. Волкова, И.П. Матвеева

Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия, oper263@mail.ru, galvol@bk.ru

Целью работы являлось изучение эффективности известных *Yr*-генов устойчивости растения-хозяина к северокавказской популяции *P. striiformis* во взрослом состоянии растений. Исследования проведены классическими фитопатологическими методами. Оценка 16 близкородственных линий сорта *Avocet*, 39 сортов-дифференциаторов международного, европейского, американского и дополнительного набора сортов проведена в период молочно-восковой спелости зерна по общепринятым методикам [Gassner, Straib, 1932; Peterson et al., 1948; Коновалова и др., 1977]. Выявлено 11 высокоэффективных и 32 эффективных гена устойчивости *Yr*, обеспечивающие надежную защиту пшеницы. Они рекомендуются для использования в селекционной практике при создании ржавчиноустойчивых сортов.

Ключевые слова: желтая ржавчина, пшеница, *Yr*-гены, эффективность.

Возбудитель желтой ржавчины пшеницы – *Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn., как и другие ржавчинные грибы, характеризуется активным формообразованием, приводящим к появлению новых фенотипов с разным сочетанием генов вирулентности [Шумилов и др., 2015]. Спектр расового и генетического состава ржавчинных патогенов органически связан с экологическими факторами, конкурентной способностью новых клонов гриба, появляющихся в результате мутаций по вирулентности, и структурой возделываемых сортов. Поскольку на Северном Кавказе, в основном, выращивают сорта пшеницы с расоспецифической устойчивостью, они будут постоянно поддерживать фенотипическое разнообразие патогена [Шумилов и др., 2012]. Поэтому важное

место занимает ежегодный контроль за экспрессивностью известных генов устойчивости растения-хозяина и возможностью их использования в селекции новых сортов.

С целью определения эффективности генов устойчивости (*Yr*) во взрослом состоянии во ВНИИ биологической защиты растений прошли в 2015 году полевую оценку на фоне искусственного заражения 16 близкородственных линий сорта *Avocet*, 39 сортов-дифференциаторов международного, европейского, американского и дополнительного набора сортов.

Инокуляцию растений осуществляли в фазу выхода растения в трубку (37–39 по Zadoks, 1974). В качестве контроля по восприимчивости использовали сорт Кав. Оценку типа реакции (шкала Гасснера и Штрайба) [Gassner,

Straib, 1932; Коновалова и др., 1977] и степени поражения растений (шкала Петерсона) [Peterson et al., 1948] проводили в период молочно-восковой спелости зерна (фаза 79 по Zadoks, 1974).

Оценка эффективности генов устойчивости пшеницы во взрослом состоянии растений проведены на жестком инфекционном фоне. Согласно проведенной оценке, гены ранжированы следующим образом:

– высокоэффективные (типы реакции i, 0 баллов) *Yr*: *3a+4a+D+Dru+Dru2*, *3b+4b+H46*, *4+12*, *5*, *5* (в *T. spelta album*), *16*, *25*, *Exp1+Exp2*, *SP*, *SP+25*, *Tye* (11 линий и сортов);

– эффективные (тип 1, 1(2), 2 балла, степень поражения 1–5%) *Yr*: *1*, *1+3b+3c+4b+14*, *2+6+HK*, *2+9+Cle*, *2+HVII*, *2+3a+4a+Yam*, *3*, *3a*, *3a+4a+V23*, *3a+4a+ND+12*, *6*, *6+25*, *7*, *7+25*, *8*, *8+19*, *11*, *13*, *17*, *18*, *24*, *26*, *27*, *32*, *A2*, *A3*, *Dal+Da2*, *Pal+Pa2+Pa3*, *Pr1+Pr2*, *SD+25*, *SU*, *Tr1+Tr2* (32 линии и сорта);

– умеренноэффективные (типы 1(2), 2, 2(3) балла, степень поражения 6–20%) гены *Yr*: *1* (в Chinese 166), *3c+Min*, *4b*, *10*, *10+Mor*, *15*, *A* (7 линий и сортов);

– неэффективные (тип 2, 2,3, 3 и 4 балла, степень свыше 20%; тип 3,4 балла, степень свыше 5%) гены *Yr*: *3a+Ste+Ste2+S*, *6+20*, *7+22+23*, *9*, *21* (5 линий и сортов).

Таким образом, для селекции пшеницы на устойчивость к возбудителю желтой ржавчины на юге России рекомендуются с условием постоянной ротации высокоэффективные и эффективные гены, перечисленные выше. Однако, успех селекции на длительную устойчивость к ржавчинным грибам, обладающим значительным запасом изменчивости, может быть достигнут только на базе широкого генетического разнообразия исходного материала с учетом внутривидовой дифференциации возбудителей и тенденций происходящих изменений.

Библиографический список (References)

Коновалова Л.Ф. [и др.] Методические рекомендации по изучению состава возбудителей ржавчины хлебных злаков / Л.Ф. Коновалова [и др.]. ВНИИФ. ВАСХНИЛ. М. 1977. 144 с.
Шумилов Ю.В., Волкова Г.В., Надыкта В.Д. Структура популяции возбудителя желтой ржавчины пшеницы по вирулентности на Северном Кавказе // Микология и фитопатология. 2015. Т. 49. вып. 3. С. 194–200.
Шумилов Ю.В. Изучение генетического разнообразия растения-хозяина к закавказской популяции возбудителя желтой ржавчины пшеницы (*Puccinia striiformis* West. f. sp. *tritici* Erikss. et Henn.) / Ю.В. Шумилов, Г.В. Волкова, Т.С. Иванова // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 186–187

тега (Научный журнал КубГАУ) [Электронный ресурс]. – Краснодар: КубГАУ, 2012. 77(03). Шифр Информрегистра: 0421200012/0183. Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2012/03/pdf/35.pdf>.
Gassner G. Die Bestimmung der biologischen Rassen des Weizengelbrostes (*Puccinia glumarum* f.sp. *tritici* (Schm.) Erikss. and Henn.) / G. Gassner, W. Straib // Arb. Biol. Reichsanst. 1932. V. 21. P. 141–164.
Peterson, R.F. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals / R.F. Peterson, A.B. Campbell, A.E. Hannah // Can. J. Res. Sect., 1948. V. 26. P.496–500.
Zadoks, J.C. A decimal code of the growth stage of cereal / J.C. Zadoks, T.T. Chang, G.F. Konzak // Weed Research. 1974. V. 14. P. 415–421.

EVALUATION OF GENES EFFICIENCY FOR RESISTANCE TO YELLOW RUST IN ADULT WHEAT PLANT

Yu.V. Shumilov, G.V. Volkova, I.P. Matveeva

All-Russian Institute of Biological Plant Protection, oper263@mail.ru, galvol@bk.ru

The aim of the work was to study the effectiveness of the known *Yr*-resistance genes of the host plant to the North Caucasian population *P.striiformis* in adult plants. The research was carried out using classical phytopathological methods. The evaluation of 16 near isogenic lines of Avocet cultivar, 39-differentiator cultivars of international, European, American, and an additional set of cultivars was carried out in the period of milk-wax ripeness according to conventional techniques. Eleven highly effective and 32 effective resistance genes *Yr*, providing reliable wheat protection, were detected. They are recommended for use in breeding to develop rust-resistant cultivars.

УДК 581.1

БЕЗБАКТЕРИАЛЬНОЕ ПОЛУЧЕНИЕ КОСМАТЫХ КОРНЕЙ

Г.Р. Ясыбаева, З.Р. Вершинина, Б.Р. Кулуев, А.В. Чемерис

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия, gulnar.yas@mail.ru

Целью данного исследования стала разработка нового подхода безбактериального получения косматых корней и изучение их морфофизиологических особенностей. В работе были использованы молекулярно-биологические методы. Результатами данного исследования стали: 1) амплификация *rol*-генов с *Ri*-плазмиды *Agrobacterium rhizogenes* штамма *A4*, которые специфически модифицировались с целью дальнейшей рекомбинации с геномом растений; 2) подбор и оптимизация условий для проведения биобаллистической трансформации; 3) получение двух линий косматых корней, в результате трансформации листовых эксплантов табака ампликоном *rol*-генов с помощью биобаллистического метода. Полученные корни имели характерный для косматых корней фенотип. Морфофизиологические показатели регенировавших *in vitro* растений соответствовали фенотипам растений табака, полученных из косматых корней, образованных штаммами *A. rhizogenes*. Тем самым показана возможность получения косматых корней без использования *A. rhizogenes*, что имеет перспективы для трансформации растений не подверженных агробактериальной инфекции.

Ключевые слова: косматые корни, *rol*-гены, биобаллистика, трансгенные растения, табак.

Грамотрицательная почвенная фитопатогенная бактерия *Agrobacterium rhizogenes* вызывает неопластический плагитропный рост косматых (англ. «hairy roots») корней

у различных растений, относящихся к классу двудольных. Данная бактерия содержит *Ri*-плазмиду, Т-ДНК которой способна интегрироваться в растительный геном. Экспрес-

сия *rol*-генов (*root locus*) – *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, содержащихся в Т-ДНК, нарушает нормальное функционирование растительного организма (в частности, влияет на гормональный баланс), что приводит к определенным морфологическим изменениям трансформированных растительных тканей, в частности появлению косматых (бородатых) корней. Инфицированные растения продуцируют различные вторичные метаболиты – алкалоиды, терпеноиды, фенолы, гликозиды и др., часть из которых служит сырьем для получения лекарственных препаратов или относятся к другим хозяйственно-ценным соединениям, включая инулин, полиизопрен и др.

В природных условиях почвенные бактерии *A. rhizogenes* инфицируют здоровые растения, проникая через повреждения корней. В связи с этим довольно простым и распространенным способом является сокультивирование надрезанных скальпелем или проколотых иглой растительных эксплантов с суспензией агробактерий [Van de Velde et al., 2003]. Для изучения особенностей взаимодействия *A. rhizogenes* с растениями, процесса образования косматых корней и возможностей их практического использования в качестве продуцентов биологически активных веществ разрабатываются все новые подходы получения бородатых корней у различных растений [Кулуев и др., 2015]. Одним из недостатков описанной выше методики является достаточно трудоемкий и долгий процесс избавления от агробактерий и большая зависимость эффективности трансформации от штамма *A. rhizogenes* и вида инфицируемого растения. Более того, данный метод подходит в основном только для трансформации двудольных растений, так как у однодольных и голосеменных растений таким способом получить косматые корни весьма трудно.

Для преодоления этих трудностей в нашей лаборатории был предложен новый метод безбактериального получения косматых корней. Сущность данного подхода заключается в биобаллистической трансформации стерильных растительных эксплантов микрочастицами золота, покрытых ампликоном, содержащим все 4 *rol*-гена и ограниченного с двух сторон Т-границами Т-ДНК *A. rhizogenes*.

В работе использованы бактерии *Agrobacterium rhizogenes* штамма А4. Тотальную ДНК бактерий выделяли с помощью набора ДНК-Сорб (ИнтерЛабСервис, Россия). Фрагмент ДНК агробактерии размером 5401 п.н., содержащий гены *rolA*, *rolB*, *rolC* и *rolD*, был амплифицирован из плазмидной ДНК *A. rhizogenes* при помощи LR Plus поли-

меразы (Силекс, Россия). Для добавления в ампликон последовательностей правой и левой границ Т-ДНК *A. rhizogenes* проводили реамплификацию при помощи модифицированных прямого и обратного праймеров. Биобаллистическая трансформация проводилась с использованием “генной пушки” Biolistic PDS-1000/He (Bio-Rad, США), где в качестве микроносителя были использованы микрочастицы золота Bio-Rad, средний размер которых составлял 0.6 мкм. Преципитацию ДНК проводили кальций-спермидиновым способом, по Файнер. Для повышения выживаемости трансформируемой ткани проводили осмотическую предобработку (культивация листовых пластинок табака в среде с содержанием сахарозы 90 г/л). Для биобаллистики было использовано расстояние от источника частиц до ткани мишени 6 см. После выстрела листовые экспланты помещали на агаризованную безгормональную среду Мурасиге-Скуга. Чашки выдерживались при 25 °С в темноте.

Через 10–15 дней культивирования на отдельных листовых эксплантах появились косматые корни. Эффективность трансформации листовых пластинок табака с использованием оптимизированных параметров составила 4%. Полученные корни имели характерный для косматых корней фенотип: активное образование боковых корней, быстрый и агравитропный рост. Через 20–30 дней на бородатых корнях появились точки регенерации, которые дали начало нескольким побегам. Фенотипы этих *in vitro* растений соответствовали фенотипам растений табака, зараженных *A. rhizogenes* в природе (низкорослые, кустистые растения с темно-зелеными морщинистыми листьями). Для подтверждения косматости корней проводили ПЦР-анализ с праймерами к фрагменту *rolB*-гена, так как это ген является ключевым в корнеобразовании [Nilsson, Olsson, 1997]. Основным преимуществом разработанного *de novo* биобаллистического метода получения косматых корней является то, что нет необходимости удалять агробактерии при дальнейшей культивации культуры корней (в частности в биореакторах), поскольку они уже изначально не присутствуют в процессе трансформации. Также этот метод (в перспективе) позволит получать бородатые корни у некоторых растений, трудно или совершенно не поддающихся агробактериальной трансформации (например, у однодольных растений и голосеменных растений).

Исследования проводились при финансовой поддержке грантов РФФИ-Поволжье – № 14-04-97005 р_поволжье_a; РФФИ-Инициативный – № 16-04-00902 А.

Библиографический список (References)

- Кулуев Б.Р., Вершинина З.Р., Князев А.В., Чемерис Д.А., Баймиев А.Х., Чумаков М.И., Баймиев А.Х., Чемерис А.В. «Косматые» корни растений – важный инструментальный для исследователей и мощная фитохимбиофабрика для производственников // Биомика, 2015. Т. 7, № 2, 70–120;
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 187–188
- Nilsson O., Olsson O. Getting to the root: The role of the *Agrobacterium rhizogenes* *rol* genes in the formation of hairy roots // *Physiol. Plant.* 1997. V. 100. P. 463–473;
- Van de Velde W., Karimi M., Den Herder G., Van Montagu M., Holsters M., Goormachtig S. *Agrobacterium rhizogenes* – mediated transformation of plants. In: Jackson J.F., Linskens H.F. (eds.) *Genetic Transformation of Plants*. Springer Berlin Heidelberg, 2003. P. 23–44.

INDUCTION OF HAIRY ROOTS WITHOUT AGROBACTERIUM TRANSFORMATION

G.R. Yasybaeva, Z.R. Verшинina, B.R. Kuluev, A.V. Chemeris

Institute of Biochemistry and Genetics Ufa Scientific Centre RAS, gulnar.yas@mail.ru

The *Ri*-plasmid А4 of *Agrobacterium rhizogenes* contains within its T-DNA genetic information which able to trigger the hairy root syndrome in infected plants. We proposed a new method of induction of hairy roots without agrobacterium transformation. The possibility of development of hairy roots on tobacco leaves through biobalistic transformation was shown.

Указатель организаций

- Агрофизический НИИ, Санкт-Петербург, Россия 39, 140
Башкирский государственный университет, Уфа, Россия 111, 145
Башкирский НИИ сельского хозяйства, Уфа, Россия 24, 102
Белгородский аграрный университет им. В.Я. Горина, Белгород, Россия 183
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь 41
Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург, Россия 133
Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия 15, 22, 38, 46, 72, 74, 83, 171, 178
Всероссийский НИИ биологической защиты растений, Краснодар, Россия 20, 38, 79, 130, 186
Всероссийский НИИ виноградарства и виноделия имени Я.И. Потапенко, Новочеркасск, Россия 97, 98, 163
Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия 18, 22, 27, 29, 30, 32, 44, 46, 47, 48, 52, 53, 54, 56, 58, 60, 64, 76, 81, 82, 85, 93, 101, 109, 110, 115, 120, 124, 126, 127, 129, 133, 134, 135, 136, 146, 150, 155, 159, 166, 174, 181
Всероссийский НИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко, Зерноград, Россия 86
Всероссийский НИИ риса, Краснодар, Россия 70, 86
Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных культур РАН, Московская область, Россия 43, 68, 104
Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия 39, 94, 95
Государственный аграрный университет Северного Зауралья, Тюмень, Россия 168
Дальневосточный НИИ лесного хозяйства, Хабаровск, Россия 50, 87
Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет, Днепропетровск, Украина 116
Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия 76, 129, 131, 146, 155, 170, 173
Институт биологии Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия 90, 108, 122, 137, 139
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва, Россия 64
Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия 24, 33, 57, 75, 91, 102, 111, 118, 143, 145, 158, 161, 175, 187
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина, Пушкино, Россия 130
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь 65
Институт генетики, физиологии и защиты растений АН Молдовы, Кишинев, Молдова 35, 36, 113, 147, 149, 179, 185
Институт микробиологии и биотехнологии АН Молдовы, Кишинев, Молдова 35, 36
Институт нефтехимии и катализа РАН, Уфа, Россия 145
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия 170
Казахский национальный аграрный университет Алматы, Казахстан 93, 119
Казахский НИИ защиты и карантина растений, Алматы, Казахстан 78, 85, 93, 123, 146
Казахский НИИ картофелеводства и овощеводства, Алматы, Казахстан 71
Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, Бишкек, Кыргызстан 85
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия 23, 155, 182
Научная школа «Экатор», Москва, Россия 39
Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, Нижний Новгород, Россия 153
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия 26, 153, 160
НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека, Санкт-Петербург, Всеволожский р-н, гп. Кузьмоловский, Россия 32
НИИ сельского хозяйства Крыма, Симферополь, Россия 19, 89
Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия 164
Производственно-научная компания «АгроБиоТехнология», Москва, Россия 155
Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия 61, 62
Санкт-Петербургский государственный технологический институт, Санкт-Петербург, Россия 181
Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна, СПб, Россия 32
Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия 46, 100, 105, 106, 136, 177
Северо-Кавказский зональный НИИ садоводства и виноградарства, Краснодар, Россия 100
Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения, Одесса, Украина 156
Сибирский НИИ сельского хозяйства, Омск, Россия 142
Тихоокеанский государственный университет, Хабаровск, Россия 50, 87
Тюменский государственный университет, Тюмень, Россия 67
Тюменский научный центр СО РАН, Тюмень, Россия 67
Филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Тюменской области, Тюмень, Россия 168
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Харьков, Украина 16
Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия 155

Авторский указатель

- Абдужерим, Р. 93
 Абдуллаев, Р.А. 15
 Абзианидзе, В.В. 32
 Авксентьева, О.А. 16
 Агансонова, Н.Е. 18
 Агеева, М.Н. 26
 Акири, И.Г. 35
 Александрова, А.В. 155
 Алексеенко, Н.В. 19
 Алпатьева, Н.В. 15
 Андросова, В.М. 20
 Анисимов, А.И. 61, 62
 Анисимова, И.Н. 15
 Антош, Л.П. 147
 Арестова, Н.О. 163
 Аристова, М.К. 54, 56
 Аханаев, Ю.Б. 131
 Ахметкиреева, Т.Т. 145
 Баймиев, Ал.Х. 91, 118
 Баймиев, Ан.Х. 57, 75
 Баранова, О.А. 22
 Баташева, Б.А. 15
 Белан, И.А. 142
 Беленикин, М.С. 23
 Белимов, А.А. 39
 Белякова, Н.А. 29
 Беньковская, Г.В. 24, 102, 145, 158, 161
 Березина, Е.В. 26, 160
 Березюк, Ю.Н. 36
 Берестецкий, А.О. 32, 47, 60, 134, 135
 Берим, М.Н. 27
 Биницкая, Н.В. 29
 Благова, Д.К. 158
 Блинова, Е.В. 46
 Бойкова, И.В. 30
 Большакова, К.П. 32, 134
 Бондарева, Л.Л. 104
 Борисов, Б.А. 155
 Братухина, А.А. 35
 Брилкина, А.А. 26, 160
 Бронникова, Л.И. 152
 Брыкова, А.Н. 74
 Будак, А.Б. 179
 Булойчик, А.А. 65
 Бурханова, Г.Ф. 33, 143
 Бурцева, С.А. 35, 36
 Бырса, М.Н. 35, 36
 Ваганова, О.Ф. 38
 Вареник, Б.Ф. 156
 Варфоломеева, Е.А. 133
 Васильева, А.М. 122
 Вершинина, З.Р. 91, 118, 187
 Веселов, А.П. 26, 153
 Веселова, С.В. 143
 Вилкова, Н.А. 126
 Вишневецкая, Н.А. 94
 Владимирова, И.А. 100
 Волкова, Г.В. 38, 186
 Волосатова, Н.С. 60
 Воробьева, М.М. 41
 Воробьев, Н.И. 39
 Воронова, Н.В. 41
 Воронцова, Я.Л. 76
 Вюртц, Т.С. 43
 Гаврилова, О.П. 46, 181
 Гагкаева, Т.Ю. 44, 46, 181
 Галимзянова, Н.Ф. 90
 Ганнибал, Ф.Б. 47
 Гасич, Е.Л. 47
 Герус, А.В. 48
 Гильванова, Е.А. 122
 Гладкова, Е.В. 38
 Глазырина, В.А. 70
 Глупов, В.В. 131, 146, 173
 Голубев, Д.А. 50, 87
 Гомжина, М.М. 52
 Григорча, С. 113
 Гризанова, Е.В. 131
 Гричанов, И.Я. 124
 Грушевая, И.В. 53, 76, 101
 Гуватова, З.Г. 90
 Гультияева, Е.И. 54, 56
 Гуменко, Р.С. 57, 75
 Гусева, О.Г. 82
 Давидьян, Е.М. 58
 Далинова, А.А. 60
 Денисов, А.М. 111
 Диденко, А.О. 20
 Доброхотов, С.А. 61, 62
 Добрынин, П.В. 177
 Долгих, В.В. 64
 Долгих, Е.А. 94
 Долматович, Т.В. 65
 Доманская, О.В. 67
 Домблides, Е.А. 43
 Домнина, Н.С. 136
 Дубина, Е.В. 86
 Дубовский, И.М. 131
 Дужак, А.Б. 170
 Дуйсембеков, Б.А. 93, 146
 Дуран, Н.А. 98
 Енгальчева, И.А. 68
 Епифанович, Н.В. 70
 Епифанович, Ю.В. 70
 Ермолаева, Л.В. 178
 Ертаева, Б.А. 71
 Закота, Т.А. 48
 Заячковская, Т.В. 43
 Злотников, А.К. 130
 Зотеева, Н.М. 72
 Зуев, Е.В. 38, 74
 Иванова, Е.С. 57, 75
 Игнатьева, А.Н. 76
 Ильницкая, Е.Т. 100
 Инге-Вечтомов С.Г. 14
 Ионина, В.И. 90
 Исин, М.М. 78
 Исмаилов, В.Я. 79
 Кабанин, И.Б. 168
 Казарцев, И.А. 54, 56
 Каменова, А.С. 93, 146
 Каримов, А.А. 33
 Кириллова, О.С. 81
 Китаев, К.А. 161
 Ковалева, М.М. 74
 Ковалева, О.Н. 83
 Коваленко, Н.М. 22, 109, 136
 Коваль, А.Г. 82
 Козлова, Е.Г. 115
 Кологривая, Р.В. 163
 Колоколова, Н.Н. 67
 Коновалова, Г.С. 83
 Конончук, А.Г. 53, 101
 Конурова, Д.С. 85
 Королева, С.В. 70
 Костылева, С.А. 145
 Костылев, П.И. 86
 Коцарева, Н.В. 183
 Краснова, Е.В. 86
 Кремнева, О.Ю. 38
 Криницына, А.А. 23, 182
 Круглов, Ю.В. 95
 Крупская, Л.Т. 50, 87
 Крутова, Е.К. 153
 Крыжко, А.В. 89
 Крюкова, Н.А. 173
 Крюков, В.Ю. 129, 131, 173
 Кузнецова, Л.А. 164
 Кузнецова, Л.Н. 89
 Кузьмина, Л.Ю. 90
 Кулуев, Б.Р. 187
 Купцов, С.В. 23
 Лавина, А.М. 91, 118
 Лебедева, Т.В. 74
 Левченко, М.В. 48, 85, 93, 150
 Леднёв, Г.Р. 85, 93, 110, 146, 155
 Лепянен, И.В. 94
 Лисина, Т.О. 95
 Логачева, М.Д. 23
 Лоскутов, И.Г. 46
 Лупашку, Г. 113
 Лутова, Л.А. 105
 Лысенко, Н.С. 38
 Майстренко, А.Н. 98
 Майстренко, Л.А. 97, 98
 Макаркина, М.В. 100
 Максимова, Т.И. 158
 Максимов, И.В. 33, 143, 158
 Малыш, Ю.М. 53, 101, 127
 Марданшин, И.С. 24, 102
 Маслоброд, С.Н. 35
 Маслова, А.А. 104
 Матвеева, И.П. 186
 Матвеева, Т.В. 100, 105, 106, 177
 Мелентьев, А.И. 90
 Миннебаев, Л.Ф. 108

- Мироненко, Н.В. 109
Митина, Г.В. 64, 110, 129, 150
Митрофанова, О.П. 22, 38
Михайлова, Е.В. 111
Михайлова, Л.А. 109
Михня, Н. 113
Моор, В.В. 115
Мухина, Ж.М. 70, 86
Назаренко, Н.Н. 116
Нефедова, Л.И. 126
Нигматуллина, Л.Р. 91, 118
Низамдинова, Г.К. 119
Новикова, И.И. 120
Нурушева, Л.М. 122
Ныгьметова, А.М. 123
Овсянникова, Е.И. 124
Одинокоев, В.Н. 145
Павлова, О.В. 68
Павлюшин, В.А. 126
Пазюк, И.М. 127
Парфенова, Л.В. 145
Первушин, А.Л. 129
Петрова, М.О. 110, 159
Пищик, В.Н. 39
Подварко, А.Т. 130
Поленогова, О.В. 131
Поликарпова, Ю.Б. 133
Полуэктова, Е.В. 134, 135
Попова, Э.В. 136
Пухальский, Я.В. 39
Пушня, М.В. 79
Радченко, Е.Е. 15
Рафикова, Г.Ф. 139
Редькин, А.А. 86
Рогожин, Е.А. 64
Рогожникова, Е.С. 140
Россева, Л.П. 142
Россева, В.М. 142
Румянцев, С.Д. 143
Сабитова, М.Н. 93
Савенко, Е.Г. 70
Савченко, Р.Г. 145
Сагитов, А.О. 146
Салтанович, Т.И. 147
Сарварова, Е.Р. 175
Саргалиева, Г.М. 57, 75
Саулич, М.И. 27, 124
Сашко, Е.Ф. 149
Свиридова, О.В. 39
Селицкая, О.Г. 150
Сендерский, И.В. 48, 64
Сербаяева, Э.Р. 118
Сергеева, Л.Е. 152
Синицына, Ю.В. 153
Сковпень, Л.Н. 130
Скрытник, А.А. 181
Слямова, Н.Д. 146
Смагулова, Ш.Б. 85
Соконова, С.В. 136, 155
Солоденко, А.Е. 156
Сорокань, А.В. 158
Сперанская, А.С. 23, 182
Старцев, В.И. 104
Степанычева, Е.А. 110, 159
Стручкова, И.В. 160
Сухов, В.С. 153
Сухорученко, Г.И. 126
Сыртланова, Л.А. 161
Сьян, И.Н. 163
Терентьева, Н.В. 16
Тимейко, Л.В. 164
Тимофеев, С.А. 64
Титова, Ю.А. 166
Тоболова, Г.В. 168
Токарев, Ю.С. 48, 76, 101, 127
Толмачев, С.Ю. 39
Томилова, О.Г. 129, 131, 170, 173
Тургутбаев, К.Т. 85
Тырышкин, Л.Г. 74, 171
Тюрин, М.В. 173
Тютерев, С.Л. 126, 136
Умарова, А.О. 79
Успанов, А.М. 85, 93, 146
Ушаков, А.А. 104
Федорова, М.И. 43
Федотов, А.Д. 145
Федотова, З.А. 174
Филатова, М.Ю. 50, 87
Франк, Я.В. 67
Фролов, А.Н. 53, 101
Фуртаев, К.В. 168
Хайруллин, Р.М. 175
Хакимова, А.Г. 22, 38
Хафизова, Г.В. 105, 177
Хлопунова, Л.Б. 47
Хмелинская, Т.В. 178
Царев, А.А. 64
Чебан, А.Н. 179
Чемерис, А.В. 187
Чередова, К.В. 181
Черменская, Т.Д. 159
Чернявина, Н.В. 62
Чикида, Н.Н. 38
Чоглокова, А.А. 110, 150
Чурикова, О.А. 182
Шабетя, О.Н. 183
Шайдаюк, Е.Л. 54, 56
Ширинян, Ж.А. 79
Шмыкова, Н.А. 43
Шпанев, А.М. 140
Шубина, В.Э. 36, 185
Шумилов, Ю.В. 38, 186
Шундрин, Л.А. 70
Щеникова, А.В. 150
Щербакова, Т.И. 179
Юрлова, А.В. 160
Якунина, А.В. 153
Якуткин, В.И. 124
Ярославцева, О.Н. 76, 131, 155, 173
Ясыбаяева, Г.Р. 187

СПОНСОРЫ КОНФЕРЕНЦИИ



Научное издание.

Индекс 36189

Подписано к печати 03 июня 2016 г.



Системы Ion S5™ и Ion S5™ XL для секвенирования нового поколения

Таргетное секвенирование никогда не было проще

Система Ion S5™ XL



**ДЛИТЕЛЬНОСТЬ ЗАПУСКА
СЕКВИРОВАНИЯ ОТ 2 ДО 4 ЧАСОВ**

От ДНК до результатов
всего за 24 часа



**СИСТЕМА
ION CHEF™**

30 минут ручного труда в процессе подготовки
библиотек и матриц



**АВТОМАТИЧЕСКОЕ ОТСЛЕЖИВАНИЕ
ИСПОЛЬЗУЕМЫХ РЕАКТИВОВ**

Простая и точная регистрация с помощью
радиочастотной идентификации (RFID)



**РЕАКТИВЫ, УПАКОВАННЫЕ
В КАРТРИДЖИ**

Менее 15 минут на подготовку
прибора к запуску

Генотипирование секвенированием (GBS) - новый взгляд на молекулярно-генетические маркеры

Методы обеднения геномных библиотек

1

Секвенирование
рестрикционных
фрагментов

2

Технология AmpliSeq™ -
секвенирование выбранных
участков. Обогащение
мультиплексной ПЦР.

Создайте свою панель генов на сайте

www.ampliseq.com



Центральный офис:
119991 г. Москва,
Ленинские Горы, МГУ
д. 1, стр. 40
Тел. 8 (800) 770-71-21
Факс +7 (495) 930-00-84
mail@helicon.ru

www.helicon.ru

**Представительство
в Сибирском регионе:**
630090 г. Новосибирск, ул. Инженерная, 28
Тел. +7 (383) 207-84-85
novosibirsk@helicon.ru

**Представительство
в Северо-Западном Регионе:**
195220 г. Санкт-Петербург,
ул. Гжатская 22 корп. 1,
корп. 2, лит. А, пом. 1-Н
Тел. +7 (812) 244-85-52, spb@helicon.ru

**Представительство
в Приволжском регионе:**
420107 г. Казань,
ул. Университетская, д. 22, оф. 107
Тел. +7 (843) 202-33-37, volga@helicon.ru

**Представительство
в Южном регионе:**
344116 г. Ростов-на-Дону,
ул. 2-ая Володарская, д. 76/23а
Тел. +7 (863) 294-87-66
rostov@helicon.ru

ThermoFisher
SCIENTIFIC

