

ЩУКОВСКАЯ АНАСТАСИЯ ГЕННАДИЕВНА

**МИКОГЕЛЬМИНТЫ В ЗАЩИТЕ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ ОТ РОЗОВОЙ
СНЕЖНОЙ ПЛЕСЕНИ**

Специальности: 06.01.07 – защита растений, 03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) и Федеральном государственном бюджетном научном учреждении "Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина» Российской академии наук (ФГБНУ ВНИИП РАН)

Научные руководители:

Ткаченко Олег Борисович

доктор биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий Отделом защиты растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук»

Шестепёров Александр Александрович

доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории фитогельминтологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К.И. Скрябина»

Российской академии наук

Официальные оппоненты:

Глинушкин Алексей Павлович

доктор сельскохозяйственных наук, ВРИО директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ВНИИФ)

Кулинич Олег Андреевич

доктор биологических наук, начальник отдела лесного карантина Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ ВНИИКР)

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова».

Защита диссертации состоится «24» мая 2016 г. в 14:30 часов на заседании диссертационного совета Д 220.043.04 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева» по адресу: 127550, г. Москва, ул. Прянишникова, д.19, тел/факс: 8(499) 976-21-84.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке имени Н.И. Железнова ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева и на сайте университета: <http://www.timacad.ru>

Автореферат разослан «___» апреля 2016 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Алексей Николаевич Смирнов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Розовая снежная плесень (далее РСП) озимой пшеницы вызывает фитопатогенный низкотемпературный гриб *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett. Болезнь является одним из вредоносных заболеваний озимой пшеницы в Московской области. При сильном поражении наблюдается отмирание узла кущения, листовых влагалищ, корней и гибель всего растения. Выжившие растения могут отставать в своем развитии, а в их колосьях часто формируется неполноценное зерно. Вредоносность розовой снежной плесени заключается в изреживании посевов, а нередко полной их гибели. При сильном поражении растений иногда приходится прибегать к пересеву яровыми. Потери урожая при этом могут быть более 20-50 % (Санин и др., 1999, Захаренко и др., 2000).

Для подавления розовой снежной плесени используют химические фунгициды при предпосадочном протравливании зерна и опрыскивании ими как можно ближе к установлению снегового покрова, сроки установления которого трудно предсказать (Серая и др., 2003; Тазина, 2005; Ткаченко и др., 2015). Но вместе с тем, зачастую, применение фунгицидов, несмотря на очевидный эффект, имеет много отрицательных сторон (загрязнение окружающей среды, особенно при многократных обработках, стимулирование появления резистентных к ним форм вредных организмов, подавление или уничтожение полезных видов, участвующих в регуляции их численности). В настоящее время защите озимой пшеницы от розовой снежной плесени требуется альтернатива. В борьбе с этим заболеванием наиболее эффективна комплексная система защитных мероприятий, где биологический метод имеет важное значение. Основные вопросы в развитии биологической защиты растений связаны с уменьшением применения химических средств защиты растений с целью снижения экологического риска сельскохозяйственных культур, сохранением целостности полезной микробиоты в структуре биогеоценоза, а также с разработкой новых биологических средств на основе энтомоакарифагов, энтомопатогенов и микроорганизмов антогонистов-фитопатогенов (Надыкта, 2014; Павлюшин, 2013; Сагитов, Перевертин, 1987).

В органах и тканях растений или их ризосфере встречаются ассоциации нематод и других организмов, в том числе и грибов-возбудителей болезней растений. Роль нематод в комплексе «растение-хозяин – грибок (патоген) – нематода» двояка. С одной стороны нематоды выступают переносчиками патогенной микрофлоры, с другой стороны микогельминты используют в качестве источника пищи – мицелий фитопатогенных грибов (Шестеперов, Савотиков, 1995). Исследования российских и зарубежных ученых Курта, Шестепёрова, 1983; Кулинича, 1984; Щуковская, 2004; Migunova, Shestepervov 2011; Ishibashi *et al.*, 2000; Jun, Kim, 2004; Ishibashi *et al.*, 2004; Hasna *et al.*, 2007, 2008 и др., свидетельствуют о возможности использования нематод-микогельминтов против фитопатогенных грибов. В этой связи, изучение взаимоотношений, складывающихся в системе

«растение-хозяин (озимая пшеница) – возбудитель розовой снежной плесени – микогельминты» имеет теоретический и практический интерес, для дальнейшего использования микогельминтов в качестве агентов биологической борьбы (далее биоагентов) в борьбе с розовой снежной плесени озимой пшеницы.

Степень разработанности темы. Исследований изучающих взаимоотношения в системе «озимая пшеница – розовая снежная плесень – нематоды-микогельминты» в условиях низких положительных температур и практическое применение микогельминтов в регуляции развития заболевания не проводилось.

Цели и задачи. Целью работы было определение зависимости продуктивности озимой пшеницы от степени поражения розовой снежной плесенью озимой пшеницы и изучение влияния микогельминтов на развитие этого заболевания и возможности применения в качестве биоагентов.

Для достижения поставленной цели планировалось решение следующих задач:

1. Определить зависимость продуктивности озимой пшеницы от степени поражения розовой снежной плесени, вызываемой грибом *Microdochium nivale*.
2. Изучить фауну и сезонную динамику нематод в очаге розовой снежной плесени, с целью выявления микогельминтов.
3. Изучить питание и размножение микогельминтов на мицелии гриба *M. nivale* при температуре 5° С в условиях *in vitro*.
4. Сравнить эффективность микогельминтов *Aphelenchoides saprophilus*, *Aphelenchus avenae* и *Paraphelenchus tritici* в подавлении развития розовой снежной плесени.
5. Разработать технологию производства и применения биопрепарата Микогельм в очагах розовой снежной плесени.
6. Оценить биологическую и хозяйственную эффективность биопрепарата Микогельм в борьбе с розовой снежной плесенью.

Положения, выносимые на защиту.

1. Прогностическая модель продуктивности озимой пшеницы в зависимости от интенсивности развития розовой снежной плесени.
2. Микогельминты *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* как одна из причин снижения развития розовой снежной плесени озимой пшеницы.
3. Вид *A. saprophilus* – наиболее активный биоагент среди отмеченных видов микогельминтов в защите озимой пшеницы от розовой снежной плесени.
4. Биологическая и хозяйственная эффективность применения препарата «Микогельм» в борьбе с розовой снежной плесенью озимой пшеницы.

Научная новизна. Доказана зависимость продуктивности озимой пшеницы от интенсивности развития розовой снежной плесени и разработана математическая модель прогноза урожайности озимой пшеницы в зависимости от интенсивности развития заболевания.

Впервые изучена паразитарная система "микогельминт - возбудитель РСП" при низких положительных температурах, указывающая на возможность исполь-

зования трёх видов микогельминтов (*A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici*) в качестве биоагентов гриба *M. nivale*.

Впервые определён эффективный биоагент *A. saprophilus* как наиболее перспективный вид в борьбе с розовой снежной плесенью пшеницы.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработана математическая модель прогноза продуктивности озимой пшеницы в зависимости от интенсивности развития розовой снежной плесени, которая может использоваться в учебном процессе при чтении лекции и проведения практических занятий по дисциплине «Прогноз развития вредителей и болезней».

Создана коллекция микогельминтов *A. saprophilus*, *A. avenae*, *P. tritici* и *Ditylenchus* sp., которую можно использовать в учебной и исследовательской практике.

Разработана технология производства биопрепарата Микогельм, который был апробирован на посевах озимой пшеницы в Отделе отдалённой гибридизации ГБС РАН, что подтверждается Актом о проведении полевых исследований.

Разработаны «Методические рекомендации по разработке и применению препарата «Микогельм» в очагах розовой снежной плесени озимых зерновых культур», которые утверждены на Ученом совете ГБС РАН (20.11. 2014 года) и на Нематодной комиссии при Отделении защиты и биотехнологии растений РАСХН (20.01.2015 года).

Получен патент (регистр. № 2548199) на изобретение "Способ получения биологического препарата для защиты озимых зерновых от розовой снежной плесени".

Методология и методы исследований. Работа выполнена с использованием традиционных фитопатологических (Наумов, 1970, Стройков, 1986) фитогельминтологических (Парамонов, 1962, Кирьянова и Крааль, 1969, Шестеперов, 1980) методов, а также оригинальных методик адаптированных к низким положительным температурам (Серая, 2003).

Степень достоверности апробация результатов. Достоверность результатов обоснована большим объёмом исследований, применением стандартизованных методов и их модификаций. Статистические расчеты проводили методами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализа при помощи пакета программ STATISTICA 6.0 ® (StatSoft, США) и в программе Microsoft Office 2007, программы «Excel».

Материалы диссертации были доложены на международной конференции «Plant and Microbe Adaptations to Cold 2012» (РМАС 2012 Саппоро, Япония); на научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями» во Всероссийском институте гельминтологии им. К.И. Скрябина РАСХН (Москва, 2012); на Международной научной конференции «Современные проблемы общей паразитологии» (ИПЭЭРАН, Москва, 2012); на X Международном нематологическом симпозиуме (ВНИИФ, Голицыно, 2013); на III Всероссийском Съезде по защите растений (ВИЗР, Санкт-Петербург, Пушкино, 2013); на VIII Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа фи-

тосанитарной стабилизации агроэкосистем» (Краснодар, 2014); на VII конгрессе по защите растений (Златибор, Сербия, 2014); на III Международном микологическом форуме (Москва, 2015).

Публикации. По теме диссертации опубликована 21 научная работа, включая 3 статьи в рецензируемых российских журналах из списка, рекомендованного ВАК РФ.

Личный вклад автора. Представленная диссертационная работа является результатом научных исследований, проводившихся на протяжении более десяти лет, выполненных лично автором. Диссертанту принадлежит сбор материала, обработка, анализ и обобщение лабораторных и полевых и экспериментальных данных. По результатам исследований опубликована 21 научная статья, самостоятельно опубликована 1 статья, 20 статей в соавторстве с научными руководителями, доцентом, к.б.н. Е.А. Колесовой, к.б.н. А.В. Овсянкиной, к.б.н. В.П. Упельником, д.б.н. А.В. Бабошей.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, 4 глав экспериментальной части, заключения включающего выводы, практических рекомендаций, списка литературы и приложения. Материал изложен на 143 страницах машинописного текста, содержит 17 таблиц и 19 рисунков. Список использованной литературы включает 173 источника, из них 80 на иностранных языках.

Работа выполнена под научным руководством доктора биологических наук О.Б. Ткаченко и доктора биологических наук, профессора А.А. Шестеперова, которые оказывали научно-методическую помощь в проведении исследований, анализе полученных результатов, обобщении данных исследований.

Автор искренне признателен зав. лаб. фитогельминтологии ВНИИП РАН, д.б.н. В.Д. Мигуновой, доценту каф. «Агрохимии, агропочвоведения и защиты растений» РГАЗУ, к.б.н. Е.А. Колесовой, к.б.н. А.В. Овсянкиной (ВНИИФ), зав. отд. отдалённой гибридизации ГБС РАН, к.б.н. В.П. Упельнику, агроному отд. отдалённой гибридизации, м.н.с. Н.П. Кузьминой, зав. лаб. экологической физиологии и иммунитета растений ГБС РАН, д.б.н. А.В. Бабоше, с.н.с. отдела защиты растений к.б.н. ГБС РАН М.А. Келдыш, доценту каф. «Декоративного садоводства и газоноведения» ТСХА, к.б.н. С.В. Тазиной, а также заместителю директора ФГБУ «Россельхозцентра», к.б.н. Д.Н. Говорову и заместителю директора отделения защиты растений по Московской области ФГБУ «Россельхозцентра» Л.А. Воронковой, д.б.н., главному научному сотруднику Зоологического института РАН, г. Санкт-Петербурга А.Ю. Рыссу – за помощь и поддержку при проведении исследований и написании данной работы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава I. Обзор литературы

В этой главе обобщены литературные данные о возбудителе РСП озимой пшеницы грибе *M. nivale*, об источниках первичной инфекции, географическом

распространении патогена и его вредоносности, мерах защиты. Приведены сведения о биоагентах РСП, способных подавлять её развитие. Представлен анализ отечественной и зарубежной литературы, показывающий возможность применения микогельминтов в борьбе с фитопатогенными грибами.

Глава II. Материал и методика исследований

Лабораторные исследования проводили в отделе защиты растений Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН и лаборатории фитогельминтологии ВНИИП им. Н.И. Скрыбина РАН; полевые исследования – на посевах озимой пшеницы сорта «Лютесценс-147» в отделе отдалённой гибридизации ГБС РАН в период с 2005 по 2007 гг. и с 2011 по 2013 гг.

Материалом для наших исследований служили растительные образцы озимой пшеницы сорта Лютесценс-147 внешне здоровой и поражённой РСП.

Полевые опыты были заложены и проведены на сорте озимой пшеницы «Лютесценс-147», так как по нашим данным этот сорт является наиболее восприимчивым к поражению РСП (Щуковская, 2004).

Изучение вредоносности РСП на озимой пшенице проводилось в условиях мелкоделяночного полевого опыта. Площадь делянок 1 м^2 , повторность 4-х кратная. Схема опыта: контроль (внешне здоровые растения, без симптомов РСП); слабая интенсивность поражения РСП (1-30%); средняя (31-60%) и сильная (61-100%). Место закладки опыта выбирали согласно разбивки опыта по вариантам. Расположение учетных делянок – рендомизированное. Учетные делянки разбивали осенью, фенологические наблюдения проводили в течение весны и лета. Уборку урожая осуществляли в конце июля - начале августа.

Материалом для исследований по фауне нематод и её сезонной динамике являлись растительные образцы озимой пшеницы внешне здоровой и поражённой РСП, а также прикорневая почва из под посевов. Всего за период наблюдений собрано и проанализировано свыше 2 500 проб растений и почвы.

Выделение живых нематод из растительных и почвенных проб проводили модифицированным вороночным методом Бермана; экспозиция для растительных проб составляла 24 часа, почвы – 48 часов. Видовой состав нематод определяли по определителю А.А. Парамонова (1962). Количество самцов, самок и личинок учитывалось отдельно. Измерения нематод проводили по формуле de Man, 1884.

Поддержание культур микогельминтов *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* проводили на грибе *A. tenuis*.

Были проведены исследования по изучению взаимоотношений «РСП микогельминтов (*A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici*), при температуре 5° - 7° С (лабораторные, вегетационные и мелкоделяночные опыты).

Взаимоотношения микогельминтов и мицелия гриба M. nivale при 5° С.

Схема опыта: Контроль (культура *M. nivale* без нематод); *M. nivale* + *A. saprophilus* (100 ± 20 экз./пробирку); *M. nivale* + *A. avenae* (100 ± 20 экз./пробирку); *M. nivale* + *P. tritici* (100 ± 20 экз./пробирку).

Опыт был выполнен в восьмикратной повторности в лабораторных пробирках (20 × 200 мл). Одна пробирка - одна повторность. Инвазированные пробирки экспонировали в климокамере при температуре 5° С. Наблюдения, за характером исчезновения мицелия гриба, проводили с периодичностью 14 дней, когда в большинстве пробирок площадь мицелия уменьшалась, проводили смыв и подсчёт нематод.

*Взаимоотношения микогельминтов и мицелия гриба *M. nivale* на озимой пшенице в климокамере при 5°.*

Исследования проходили в условиях вегетационного опыта на модельных растениях пшеницы. Опыт был выполнен в восьмикратной повторности. Лабораторные сосуды (с выращенной озимой пшеницей, инокулированной грибом *M. nivale* и инвазированной водной суспензией нематод-микогельминтов) были помещены в климокамеру при 5° С. Физиологическое состояние растений озимой пшеницы и симптоматику поражения РСП, оценивали каждые двадцать дней. Через 55-60 дней нематод выделяли из растений пшеницы вороночным анализом и подсчитывали их количество.

Воздействие микогельминтов на развитие РСП в полевых условиях.

Проводили в условиях мелкоделяночного полевого опыта. На делянках площадью 0,5 м² высевались семена озимой пшеницы сорта Лютесценс-147. Инокуляцию растений грибом *M. nivale* проводили в октябре. Норма внесения инокулюма – 100 г заражённого зерна/м². Когда мицелий гриба распространился по всей поверхности модельной делянки, растения были инвазированы (полив из лейки) водной суспензией нематод-микогельминтов (1л/м²). Опыт был поставлен в пяти вариантах и четырёх повторностях. Образцы растений брали зимой (январь) и весной после таяния снега (апрель, май). Извлечение нематод из органов растений и почвы проводили вороночным анализом Бермана.

Отбор перспективного вида микогельминта осуществляли, сравнивая эффективность трех видов микогельминтов по отношению к грибу *M. nivale*, после проведения исследований, изучающих взаимоотношения «РСП и микогельминтов».

Для **определения оптимальной дозы** внесения препарата Микогельм был заложен полевой опыт.

Схема опыта:

1. Чистая культура *M. nivale* без внесения нематод;
2. *M. nivale* + max. концентрация препарата Микогельм (160 000 ± 20 экз.);
3. *M. nivale* + ср. концентрация препарата Микогельм (80 000 ± 20 экз.);
4. *M. nivale* + min. концентрация препарата Микогельм (38 000 ± 20 экз.).

Посев озимой пшеницы был произведен 25 августа 2011. Делянки были разбиты осенью 2011 года (площадь одной делянки 5 м²). Опыт был выполнен в четырёх кратной повторности. Инокулюм гриба *M. nivale*, вносили в ноябре 2011 г, норма внесения 100 г/м². Через десять дней, вносили препарат Микогельм. Оценку влияния препарата, в разной концентрации, на развитие РСП проводили после схода снега с весны 2012 г. и до уборки урожая. Учёт развития РСП проводили в апреле, сразу после схода снега, а урожайности в августе 2012 г.

Оценку биологической и хозяйственной эффективности разработанного препарата проводили в полевых условиях. Посев пшеницы был произведен в августе 2011 года. Площадь одной делянки один м². Расположение делянок – рендомизированное. Опыт был выполнен в 3-х вариантах (Контроль - *M. nivale* без внесения нематод; *M. nivale* + *A. saprophilus* (100 000 ± 20 экз./м²); *M. nivale* + Фитоспорин-М[®], П – 2, 5 г/м² – стандарт) и четырёхкратной повторности. Инокулюм гриба *M. nivale*, вносили в норме в 100 г/м². Через десять дней, вносили водную суспензию *A. saprophilus*. Биологическую эффективность защитных мероприятий оценивали сразу после схода снега весной 2012 г, а хозяйственную – во время уборки урожая (август 2012 г.)

Статистические расчеты проводили методами дисперсионного, корреляционного и регрессионного анализа при помощи пакета программ STATISTICA 6.0[®] (StatSoft, США) и в программе Microsoft Office 2007, программы «Excel».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Глава III. Вредоносность розовой снежной плесени озимой пшеницы

РСП ежегодно была распространена на посевах озимой пшеницы с развитием болезни от слабой степени поражения (1-30 %) до сильной (61-100 %). На интенсивность развития РСП озимой пшеницы большое влияние оказывали условия окружающей среды.

Периоды 2005-2007 годов не способствовали развитию патогена из-за незначительной высоты (менее 25 см в зимние месяцы) снегового покрова и его небольшой продолжительности, менее 5 месяцев, снег сошел с полей в 1-ой декаде марта, чему способствовало резкое установление положительных температур в весенние месяцы (февраль – -10,7° С, в марте и апреле 4,7-6,0° С). Интенсивность поражения, в этот период, не превышала 11,2-28,9 % (слабая степень поражения) (таблица 1). Продолжительность снегового покрова более 5 месяцев (снег сохранялся на полях до 1-декады апреля), большая высота снежного покрова (февраль – 24 см, из-за обильных осадков в марте-апреле 30-35 см) и сохранение в весенние месяцы отрицательных температур в периоды 2011-2012 годов благоприятствовали распространению и интенсивному развитию заболевания (таблица 1).

Таблица 1

Влияние интенсивности степени развития РСП на показатели структуры урожая озимой пшеницы сорта Лютесценс-147 (2007, 2011 годы.)

2007 год								
Варианты	Кол-во растений, шт./м2	Продукт. стеблей, шт./м2	Высота растений, см	Длина колоса, см	Зёрна в колосе, шт.	Масса зёрен в колосе, г	Масса 1000 зёрен, г	Биологическая продуктивность, г/м2,
Контроль (без поражения)	441,5	437,7	104,2	8,4	29,0	2,31	46,6	479,3
Слабое поражение (1-30 %)	379,7	375,7	102,0	8,5	26,5	2,16	44,2	386,6
Среднее поражение (31-60 %)	373,8	372,3	99,8	8,4	26,0	2,10	43,8	371,6
Сильное поражение (61-100 %)	324,5	314,0	99,8	8,3	23,5	1,98	41,37	296,0
НСР _{0,5}	1,89	4,26	F _φ <F _т					35,5
2011 год								
Варианты	Кол-во растений, шт./м ²	Продукт. стеблей, шт./м ²	Высота растений, см	Длина колоса, см	Зёрна в колосе, шт.	Масса зёрен в колосе, г	Масса 1000 зёрен, г	Продуктивность, г/м ²
Контроль (без поражения)	400,3	391,3	105,0	8,1	26,	2,6	46,8	476,2
Слабое поражение (1-30 %)	332,8	331,8	104,8	8,5	24,0	2,2	49,0	346,0
Среднее поражение (31-60 %)	344,3	338,3	102,3	8,5	25,0	2,03	46,7	311,0
Сильное поражение (61-100 %)	318,5	315,8	102,3	8,4	27,8	2,25	45,6	233,0
НСР _{0,5}	F _φ <F _т							22,4

При слабой степени поражения 1-30 % - 2007 год отмечалось снижение продуктивности с 460,5 до 302,8 г/м², а при сильной степени поражения 60-100 % – 2011 год с 460,1 до 240,7 г/м².

Установлена обратная корреляционная зависимость (коэффициент корреляции $R=-0,81$) между развитием РСП и продуктивностью озимой пшеницы сорта Лютесценс-147. Это показывает, что продуктивность пшеницы на 81% объяснялась вариабельностью учитываемого фактора (степенью поражения РСП)

На основе данных о развитии РСП и продуктивности озимой пшеницы сорта Лютесценс-147, во все годы исследований, разработана математическая модель прогноза продуктивности озимой пшеницы (У) в зависимости от степени пораже-

ния РСП (X), которая определяется линейным уравнением $y = -1,746x + 434,6$ с коэффициентом детерминации $R^2 = 0,6$, показывающим высокую зависимость продуктивности пшеницы от степени развития РСП (рис. 2).

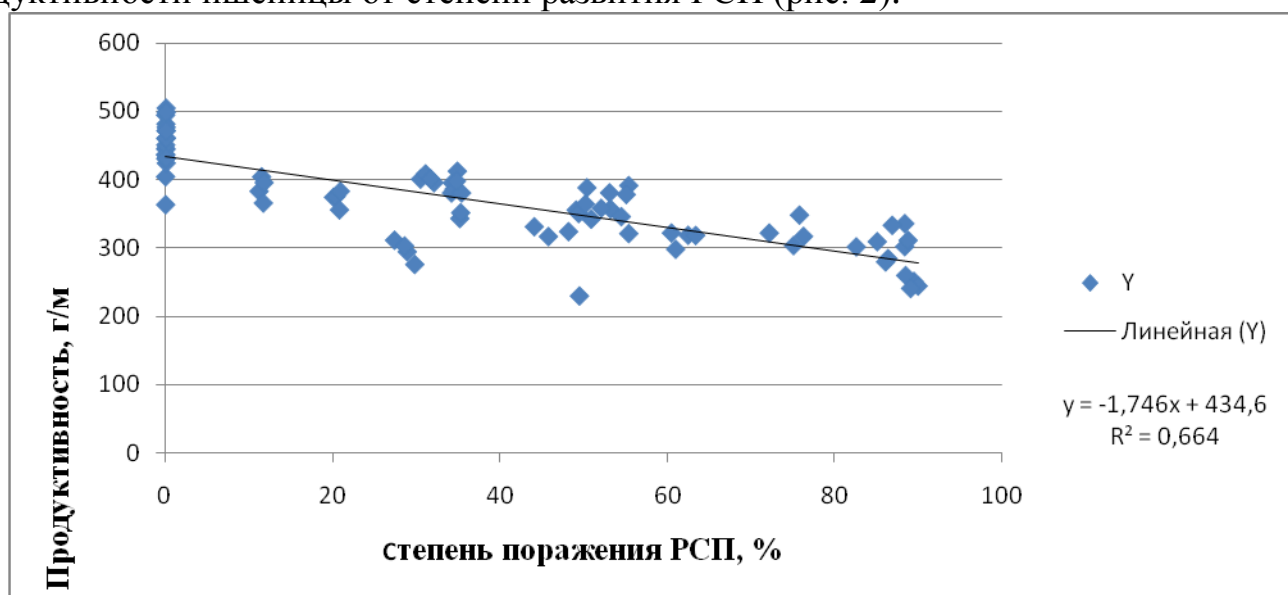


Рисунок. 2. Зависимость продуктивности озимой пшеницы сорта Лютесценс 147 от степени поражения РСП за годы исследований

Глава IV. Фауна и динамика нематод озимой пшеницы в очаге розовой снежной плесени

Обнаруженные нематоды, согласно экологической классификации А.А. Парамонова (1970) в очаге РСП распределялись следующим образом: параризобионтов – 3 вида, эузапробионтов – 1 вид, девисапробионтов – 3 вида, микогельминтов – 4 вида (рис. 3).

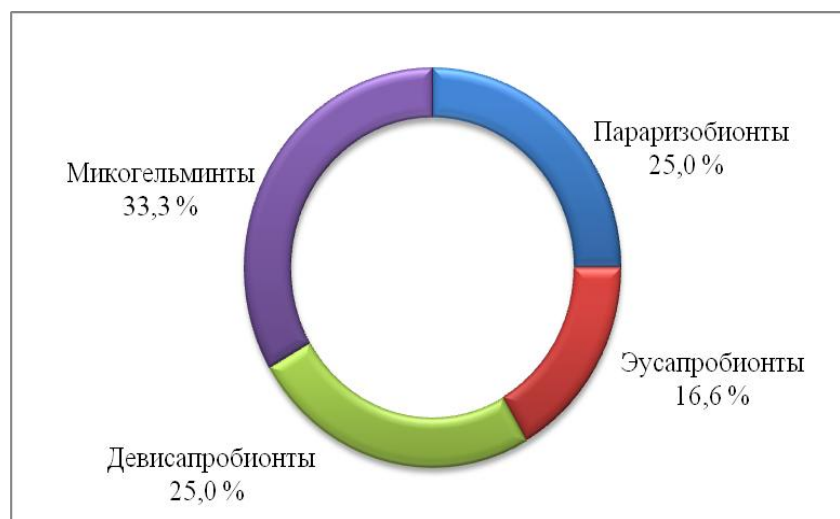


Рисунок. 3. Процентное соотношение экологических групп нематод в очаге розовой снежной плесени озимой пшеницы

Наиболее разнообразной по видовому составу оказалась группа микогельминтов, которая представлена четырьмя видами: *A. saprophilus* – 84,8 %, *A. avenae*

– 4,9 %, *P. tritici* – 7,5 % и *Ditylenchus* sp. – 2,6 %, от общего числа микогельминтов. Микогельминты особенно характерны для надземной части растений пшеницы, поражённой РСП. Их количество в поражённых растениях было в несколько раз больше, чем в непоражённых (24,1 % в поражённых растениях и 4,4 % в здоровых, от общего числа нематод) (рис. 4).

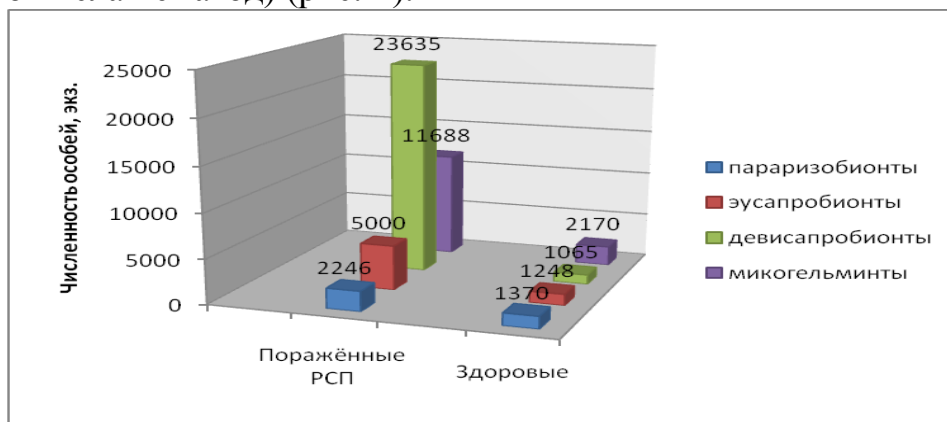


Рисунок. 4. Численность нематод (экз.) разных экологических групп в поражённых РСП растениях пшеницы и внешне здоровых

Наращение численности микогельминтов, происходило в весенний период вегетации, на фоне повышенного развития заболевания, что свидетельствует о трофических связях нематод и гриба.

Обнаруженные микогельминты в очагах розовой снежной плесени озимой пшеницы (приведены собственные промеры нематод)

***Aphelenchoides saprophilus*, Franklin, 1957.**

Самки. L = 0,43-0,53 мм; a = 26-33 (28); b = 8-12 (9,5); c = 12-18 (16); V = 66-70 %; копьё 11-13 мкм. Яйца 46 × 18 мкм.

Самцы. L = 0,48-0,63 (0,55) мм; a = 27-34 (30); b = 8-11 (9); c = 13-18 (15); спиккулы (с дорсальной стороны) 23 мкм; копьё 12 мкм.

***Aphelenchus avenae* Bastian, 1865.**

Самки 0,55 – 0,86 (0,67) мм; a = 25 – 39 (33); b = 4,9 – 6,9 (5,9); c = 27 – 35 (31); V = 74 – 78 (76,5) %; копьё 15 мкм.

Самцы 0,63 – 0,81 (0,74) мм; a = 27 – 33 (29); b = 8,1 – 9,6 (8,5); c = 24 – 29 (27); спиккулы 28 мкм; рулек 14 мкм; копьё 15 мкм.

***Paraphelenchus tritici* Baranovskaja, 1985.**

Самки 0,44 – 0,85 мм; a = 27,4 – 43,2; b = 3,4 – 5,9; c = 16,7 – 21,2; V = 74 – 84 %.

Самцы 0,54 – 0,60 мм; a = 27 – 30; b = 7,5; c = 19,0 – 21,5.

Глава V. Изучение взаимоотношений в системе «патоген (розовая снежная плесень) – микогельминты» при температуре 5-7° С

Взаимоотношения микогельминтов и мицелия гриба *Microdochium nivale* при 5° С

Наиболее интенсивно при температуре 5° С в пробирках с грибом *M. nivale* развивался *A. saprophilus*. Этот вид полностью уничтожал мицелий гриба в течение 60-ти дней. При этом численность *A. saprophilus* составила 1470 экз. на пробирку (табл. 2).

Таблица 2

Влияние температуры 5° С на численность микогельминтов на культуре гриба *Microdochium nivale*

Виды нематод	Численность нематод в пробирках, экз.		
	Начало эксперимента	Конец эксперимента (через 70 дней)	В среднем экз., на 1 пробирку
<i>A. saprophilus</i>	100 (± 20)	11 762 (± 20)	1 470 (± 20)
<i>A. avenae</i>	100 (± 20)	9 664 (± 20)	1 208 (± 20)
<i>P. tritici</i>	100 (± 20)	4 416 (± 20)	552 (± 20)
НСП ₀₁			174,6

Тогда как, через 60 дней в пробирках с видом *A. avenae* 45-50 % поверхности питательной среды было охвачено мицелием. Численность нематод, при этом составила – 1208 экз., на пробирку.

Через 65-70 дней микогельминт *P. tritici* не смог полностью уничтожить мицелий гриба *M. nivale*, в пробирках. А численность его популяции была в 2,5 раза ниже, чем у *A. saprophilus* и *A. avenae* (552, 1470, 128 экз., соответственно).

Полученные результаты, позволяют сделать вывод, что микогельминты *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* способны питаться и размножаться при пониженных температурах и могут быть использованы как потенциальные биоагенты в борьбе с РСП озимой пшеницы.

Взаимоотношения микогельминтов и мицелия гриба *Microdochium nivale* на озимой пшенице при 5° С в климокамере

В контролируемых условиях при температуре 5° С изучалось влияние микогельминтов на систему «растение-хозяин – гриб» («озимая пшеница – *M. nivale*»). Исследования проводились на модельных растениях озимой пшеницы инокулированных грибом *M. nivale*, а затем обработанных водной суспензией микогельминтов.

На корнях и у основания стебля растений пшеницы, поражённых *M. nivale*, в конце эксперимента отмечали некрозы. Растения были угнетены, низкорослы – высота их составляла 68,6 % к контролю (без гриба и нематод). Растения значительно отставали от контрольных в прохождении фаз развития. Через месяц после посева семян у растений в контроле начинали появляться первые побеги кущения, а на микозных растениях в это же время побеги кущения не развивались. При

внесении нематод высота и число листьев на растениях пшеницы значительно увеличивались. Так, высота растений, поражённых *M. nivale* была ниже на 52,8%, чем в контроле (без гриба и нематод), а при внесении нематод увеличилась на 40,1-47,7 %.

Внесение водной суспензии с видом *P. tritici* способствовало оздоровлению растений пшеницы уже на 35-40 день эксперимента. Разница в высоте растений в сравнении с микозными растениями составила 40,1 % (7 и 11,7 см, соответственно). К концу эксперимента отмечали увеличение числа листьев на растениях на 16 %. Результат антагонистических отношений между патогеном и *P. tritici* проявился в уменьшении распространения *M. nivale* на 30-35 % на поверхности вегетативных органов пшеницы и почве.

У модельных растений пшеницы, в варианте с видом *A. avenae*, на 60 день, после внесения отмечено увеличение высоты растений на 44,4 %. Растения имели на 21% больше листьев по сравнению с вариантом, где вносили *M. nivale*. Также наблюдали снижение распространения на 25-30% мицелия *M. nivale* на поверхности листьев и почве.

Внесение водной суспензии *A. saprophilus* уменьшило патогенное влияние гриба *M. nivale* на растения пшеницы. В конце эксперимента 93,3 % всех растений не имели внешних признаков поражения заболеванием. Растения пшеницы на 47,7 % были выше микозных растений, имели в 1,3 раза больше листьев (3,3 и 4,3 соответственно).

Внесение водной суспензии на основе микогельминтов *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* значительно уменьшило патогенное влияние гриба *M. nivale* на ход физиологических процессов растений озимой пшеницы, что отразилось на развитии растений. Наиболее высокий уровень снижения вредоносности *M. nivale* было выявлен при внесении *A. saprophilus*.

Через шестьдесят дней нематоды *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* были обнаружены во всех вариантах. Численность популяций в сравнении с первоначальной возросла в 1,3-6,6 раз. Наибольшее количество особей наблюдали в корнях модельных растений пшеницы, на поверхности которых имелся мицелий гриба *M. nivale* (табл. 3).

Таблица 3

Численность микогельминтов *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* в почве и озимой пшенице через шестьдесят дней после инокуляции грибом *M. nivale*

Варианты	Начальная численность, экз.	Численность нематод через 60 дней, экз., в 10 г		
		Почвы	Корней	Листьев
<i>M. nivale</i> + <i>A. saprophilus</i>	500 (±20)	2 020 (±20)	3 300 (±20)	976 (±20)
<i>M. nivale</i> + <i>A. avenae</i>	500 (±20)	1 867 (±20)	3 180 (±20)	672 (±20)
<i>M. nivale</i> + <i>P. tritici</i>	500 (±20)	1 370 (±20)	2 650 (±20)	315 (±20)
НСР ₀₁	-	169,8	170,0	165,2

Гриб, вызывая поражение корней, способствовал проникновению и размножению *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* в растительных тканях. Высокая плот-

ность популяций микогельминтов в почве так же объясняется благоприятными условиями питания. Мицелий гриба *M. nivale* при температуре 5° С длительное время может существовать на различных субстратах, это способствует сохранению и накоплению микогельминтов.

В экспериментальных условиях роль микогельминтов *A. saprophilus*, *A. avenae* и *P. tritici* в нематодно-грибном комплексе свелась к тому, что нематоды, питаясь мицелием гриба *M. nivale* в почве и при развитии мицелия в тканях растений, снижали вредоносность патогена, что естественно отразилось и на состоянии модельных растений.

Изучение воздействия микогельминтов на развитие розовой снежной плесени в полевых условиях

Для подтверждения полученных в экспериментальных исследованиях, данных о том, что микогельминты могут препятствовать развитию мицелия гриба *M. nivale* в растительных тканях, был заложен мелкоделяночный опыт. Основной целью, которого было показать – не только, что микогельминты способны снижать интенсивность развития РСП, но и провести сравнение эффективностей микогельминтов в подавлении развития заболевания.

В контроле, куда вносили только инокулюм гриба *M. nivale*, естественная численность микогельминтов весной увеличилась в 1,5-1,8 раза, за счёт того, что 45-50 % озимой пшеницы были поражены РСП.

В варианте с внесением культуры гриба *M. nivale* и суспензии *A. avenae* весной наблюдали увеличение численности микогельминтов в 7,6 раз в сравнении с зимним периодом. Симптомы поражения РСП весной были отмечены у 35-40 % растений.

P. tritici снизил число поражённых растений весной на 60,5 %, при этом численность его в сравнении зимним периодом возросла в 6, 2 раза.

Численность *A. saprophilus* возросла с 224 экз. зимой до 17273 экз. весной, однако в летний период наблюдалось снижение численности до 1662 экз. РСП было поражено 15-20 % растений.

Таблица 4

Сезонная динамика численности микогельминтов в растениях озимой пшеницы, поражённых розовой снежной плесенью

Вариант	Численность (экз.)				Пораженные розовой снежной плесенью растения пшеницы, в %
	Зима	Весна	Лето	Общая за период наблюдений	
<i>M. nivale</i>	44	68	34	228	45-50
<i>M. nivale</i> + <i>A. saprophilus</i>	224	17 273	1 662	19 159	15-20
<i>M. nivale</i> + <i>A. avenae</i>	1 392	10 628	954	12 974	35-40
<i>M. nivale</i> + <i>P. tritici</i>	1 140	7 068	787	8 995	40-45

Отмечено, что микогельминты *A. avenae* и *P. tritici* не обладают ярко выраженными агрессивными качествами по отношению к низкотемпературному грибу *M. nivale*, в отличие от *A. saprophilus*. Эти виды не могли полностью уничтожить

мицелий гриба в пробирках, на вегетативных органах пшеницы. А численность их популяций была в 2-2,5 раза ниже, чем у *A. saprophilus*. А в условиях мелкоделяночного опыта вид *A. saprophilus* показал наибольшую эффективность в защите озимой пшеницы от РСП. Число поражённых растений снижалось до 80,5 %, тогда как *A. avenae* и *P. tritici* снижали на 70,5 и 60 %, соответственно. Установлено, что вид *A. saprophilus* – наиболее эффективный биоагент в защите озимой пшеницы.

Глава VI. Разработка технологии производства биопрепарата Микогельм и его применение в полевых условиях

Разработка технологии производства биопрепарата Микогельм

Технология производства препарата включала следующие этапы:

- массовое размножение популяции микогельминта *A. saprophilus* на культуре гриба *A. tenuis* в колбах и биологических матрасах;
- поддержание (хранение) популяции *A. saprophilus* на культуре гриба *A. tenuis* в колбах и биологических матрасах;
- смыв и выделение нематод из питательного субстрата;
- очистка водной суспензии нематод от мельчайших частиц мицелия гриба *A. tenuis*;
- приготовление биопрепарата Микогельм.

Массовое размножения нематод-микогельминтов

Для массового размножения микогельминта использовали двухлитровые стеклянные колбы и биологические матрасы. В связи с тем, что разработанный препарат рекомендуется вносить на поражённые РСП растения озимой пшеницы осенний период, колбы и биологические матрасы засевают грибом *A. tenuis* и инокулируют культурой микогельминта в июле-августе.

Размножение A. saprophilus в биологических матрасах.

Готовую питательную среду наливали в двухлитровые биологические матрасы по 200 мл и закрывали ватно-марлевыми пробками. Затем автоклавировали при давлении 0,5 атмосфер в течение тридцати минут. После стерилизации биологические матрасы складывали на ровную поверхность до остывания и затвердевания питательной среды. Гриб высевали на полностью остывший питательный субстрат и выращивали 10-15 дней в термостате при температуре 26-27° С.

Засеянные грибом биологические матрасы заражали водной суспензией нематод в количестве 500 экз. и оставляли при комнатной температуре (18-23° С). Культивирование нематод в одном биологическом матрасе заканчивалось, когда мицелий гриба *A. tenuis* исчезал с поверхности питательной среды. Обычно это происходило на двадцатый-тридцатый день после инвазии (табл. 5).

Таблица 5

Размножение *A. saprophilus* в биологических матрасах

<i>A. saprophilus</i>	Начальная численность, экз.	Численность нематод, экз.	
		через 20 дней	через 30 дней
	500 (± 20)	25 000	40 000

Размножение A. saprophilus в стеклянных колбах.

Для размножения нематод в колбах в качестве субстрата для развития мицелия гриба использовали зерно любых злаковых культур, для увеличения объёма и для аэрации питательного субстрата добавляли измельчённую солому. В колбу засыпали ≈ 180 г зерна, добавляли ≈ 20 г соломы и заливали 200 мл водопроводной воды. Закрывали ватно-марлевыми пробками и стерилизовали в автоклаве при 0,5 атмосфер в течение тридцати минут. После стерелизации горячий субстрат встряхивали для улучшения его структуры, охлаждали и инокулировали грибом *A. tenuis*, в стерильных условиях. Колбы помещали в термостат. После полного зарастания субстрата мицелием гриба в них вносили нематод, в количестве 500 экз. Культивирование завершалось через 10-20 дней (табл. 6).

Таблица 6

Размножение *A. saprophilus* в стеклянных колбах

<i>A. saprophilus</i>	Начальная численность, экз.	Численность нематод, экз.	
		через 10 дней	через 20 дней
	500 (± 20)	10 000	12 500

Хранение колб и биологических матрасов с микогельминтом *A. saprophilus*

Когда в колбах и биологических матрасах инокулированных *A. saprophilus*, и хранящихся при комнатной температуре нематоды съедают 2/3 мицелия гриба *A. tenuis*, их (колбы и матрасы) помещают в холодильник или климокамеру при температуре 5-7° С до полного исчезновения мицелия (60-65 дней). В период хранения в колбы и биологические матрасы добавляют стерильную воду.

Смыв нематод из субстрата в колбах и матрасах

В колбы и биологические матрасы с размножившимися популяциями, о чём свидетельствовало появление на их стенках налёта (сетки) из скопившихся микогельминтов, наливали небольшой объём стерильной воды, ровно столько, чтобы была охвачена вся площадь субстрата в матрасах и чуть выше уровня питательной смеси в колбах. Колбы и матрасы несколько раз прокручивали вокруг себя, чтобы вода омывала стенки сосудов, и затем сливали суспензию в отдельную посуду, использовали мерный стакан объёмом один л. Обычно, из колб получали суспензию, приблизительно содержащую 8 250 экз. нематод. Из биологических матрасов – $\approx 24\ 500$ экз. нематод. Мерный стакан с полученной водной суспензией микогельминта хранили в холодильнике.

Выделение нематод из питательного субстрата

Для отделения нематод от субстрата в колбах и биологических матрасах использовали метод фильтрования субстрата при помощи алюминиевых сит (диаметром 20 см). В стеклянную чашку с плоским дном помещали сито с одно-двухслойным бумажным полотенцем в качестве фильтра. На фильтр тонким слоем рассыпали извлечённый из колб и биологических матрасов субстрат слоем 5-10 мм. Затем в чашки с фильтрами заливалась водопроводная вода так, чтобы жидкость покрыла насыпанную на фильтры массу. Через 24 часа сито вынимали из чашки и суспензию нематод сливали в отдельный стакан для очистки суспензии от мельчайших частиц мицелия *A. tenuis*. Водная суспензия, полученная из колб, содержала $\approx 4\ 250$ экз., а из биологических матрасов – $\approx 15\ 500$ экз.

Очистка водной суспензии нематод от мельчайших частиц мицелия гриба *A. tenuis*

Из стакана стерильной пипеткой, отсасывали $\frac{1}{4}$ часть от всего объёма жидкости. Оставляли на 30-40 минут, чтобы оставшиеся мелкие куски мицелия оказались на поверхности (в виде чёрной паутинистой плёнки) и опять отсасывали пипеткой верхний слой воды. Эту операцию повторяли три-четыре раза. Очищенную водную суспензию добавляли к уже ранее приготовленной суспензии, которую предварительно заранее достали из холодильника.

Для восстановления вирулентных качеств микогельминта к грибу *M. nivale*, нематод периодически переносили по 100 экз. из культуры *A. tenuis* в пробирки с *M. nivale*. Пробирки с нематодами хранили в климокамере при температуре 5° С. Нематод выделяли и снова переносили в пробирки с грибом *A. tenuis*.

Приготовление водной суспензии биопрепарата Микогельм

Готовую суспензию доводили до объёма 1 литра (для удобства подсчёта), тщательно перемешивали (с помощью магнитной мешалки), и подсчитывали число нематод в 1 мл несколько раз. Нематод считали в чашке Петри диаметром 40-60 мм, под которую подкладывали полиэтиленовую плёнку с нанесённой сеткой (с квадратами 5 × 5 мм), площадь каждого квадрата занимала две-третьи поля зрения стереоскопического микроскопа МБС-1 и МБС-11, при увеличении в двадцать раз. После подсчёта нематод в 1 мл определяли численность в одном л суспензии. Например, в одном мл суспензии было 1 000 (± 200) нематод, то в одном л суспензии – 1 000 000 ($\pm 200 000$) нематод.

Водную суспензию переливали в пластиковые бутылки и хранили в холодильнике при 5° С.

Внесение биопрепарата Микогельм на делянки озимой пшеницы в полевых условиях

Готовую водную суспензию в пластиковых бутылках выдерживали от двух до четырёх часов, при комнатной температуре, для выведения нематод из обездвиженного состояния.

В водную суспензию добавляли 2,5 % раствор микрокристаллической целлюлозы (2,5 г на 100 мл воды), чтобы не допустить опускания нематод на дно ёмкости.

Рабочую суспензию препарата (1 л) выливали в 10 литровую лейку и добавляли девять литров водопроводной воды. Препаратом из лейки равномерно проливали растения озимой пшеницы, поражённые РСП, на площади десять квадратных метров.

Полевые испытания биопрепарата Микогельм

В 2011-2012 гг. определяли оптимальную норму внесения препарата Микогельм, для внесения на посевы озимой пшеницы, поражённой РСП. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Эффективности применения препарата Микогельм, в разных концентрациях, на растениях озимой пшеницы, пораженной РСП

Вариант	Поражение РСП, %	Биол. эффективность, %	Продуктивность, г/м ²	Хоз. эффективность, %
<i>M. nivale</i> (контроль – без внесения нематод)	71,0	-	321,7	-
<i>M. nivale</i> + мин. концентрация (38 000 экз. (± 20)/делянка)	55,5	21,8	335,9	4,2
<i>M. nivale</i> + сред. концентрация (80 000 экз. (± 20)/делянка)	53,5	24,6	361,4	10,9
<i>M. nivale</i> + макс. концентрация (180 000 экз. (± 20)/делянка)	31,2	56,0	376,5	14,5
НСР ₀₅	-	-	18,2	-

Наибольшая биологическая и хозяйственная эффективности прослеживались при внесении препарата, содержащего 180000 экз. нематод (максимальная концентрация). Внесение препарата в максимальной концентрации снизило развитие РСП в 2,2 раза в сравнении с контролем, в средней и минимальной в 1,3-1,2 раза, соответственно. Это выразилось в повышении продуктивности на 14,2-54,8 г (табл. 5).

В связи с этим была определена оптимальная норма внесения биопрепарата Микогельм – 100 000 экз. нематод в 1 л препарата/ м².

Биологическая и хозяйственная эффективность препарата Микогельм

После установления оптимальной нормы внесения биопрепарата Микогельм мы провели сравнение эффективности препарата на основе микогельминта *A. saprophilus* и биофунгицида Фитоспорин-М[®], взятого за стандарт, при их внесении на посевы озимой пшеницы пораженной РСП.

Биопрепарат Микогельм вносили в норме 100 000 экз./м², Фитоспорин-М[®] - 2,5 г/м². Полученные результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

Сравнение эффективности применения препарата Микогельм и биофунгицида Фитоспорин-М[®] при их внесении на посевы озимой пшеницы поражённой РСП

Варианты	Развитие РСП, %	Биологическая эффективность, %	Продуктивность, г/м ²	Хозяйственная эффективность, %
Контроль (гриб <i>M. nivale</i> , без внесения нематод)	58,8	–	256,4	–
<i>M. nivale</i> + <i>A. saprophilus</i> (100 000 экз. (± 20))	17,75	69,8	359,7	28,7
<i>M. nivale</i> + Фитоспорин-М (2,5 г/м ²)	21,75	63,0	349,7	26,7
НСР ₀₅	-	-	1,5	-

После расчета биологической эффективности, установлено, что применение Фитоспорина эффективно на 63 %. Внесение этого препарата снизило развитие РСП в 2,7 раза в сравнении с контролем. В варианте с применением препарата

Микогельм биологическая эффективность составила 69,8 %. Применение данного препарата способствовало снижению развития заболевания в 3,3 раза по сравнению с контролем. Это выразилось в повышении продуктивности на 93,4-103,3 г. Хозяйственная эффективность в варианте с применением биофунгицида составила 26,7%, а в варианте с нематодами оказалась выше на 2% и составила 28,7%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На посевах озимой пшеницы сорта Лютесценс-147 в годы исследований (2005-2007 гг. и 2011-2013 гг.) зарегистрированы симптомы поражения РСП, возбудителем которой являлся низкотемпературный гриб *M. nivale* var *nivalis* способный активно развиваться под снеговым покровом. При слабой степени поражения (1-30 %) происходит снижение продуктивности с 460,5 до 302,8 г/м², а при сильной степени (61-100 %) с 460,1 до 240,7 г/м². На основе данных о развитии заболевания и его вредоносности разработана математическая модель прогноза продуктивности озимой пшеницы (Y) в зависимости от степени поражения РСП (X), которая определяется линейным уравнением $y = -1,746x + 434,6$.

Установлено, что нематоды в очаге РСП озимой пшеницы по системе таксономического деления De Ley et Blaxter (2002) являются представителями 2 классов, 4 отрядов, 4 инфраотрядов, 8 семейств. 11 родов. По экологической классификации А.А. Парамонова (1962) обнаруженные нематоды распределены следующим образом: параризобионты – 3 вида (25 %), эусапробионты – 2 (16,6 %), деви-сапробионты - 3 (25 %), микогельминты – 4 вида (33,3 %). Одной из самых многочисленных по числу особей является группа микогельминтов. Микогельминты представлены четырьмя видами: *A. saprophilus*. *A. avenae* – 4,9 %, *P. tritici* – 7,5 %, *Ditylenchus* sp. – 2,6 %. Микогельминты характерны для надземной части растений пшеницы поражённой РСП. В больных растениях было выделено в 5,3 раза больше микогельминтов, чем во внешне здоровых. Численность микогельминтов, в весенние месяцы, достигала своего максимума 96,4 %. Нарастание численности микогельминтов в весенний период вегетации происходит на фоне повышенного развития РСП.

Виды микогельминтов *A. avenae*, *P. tritici* и *A. saprophilus* питались и размножались на грибе *M. nivale* при 5° С, в климокамере и уничтожили мицелий за 60-70 дней, при этом численность их возросла в 5,5-14,7 раз по сравнению с первоначальной. Наиболее интенсивно при данной температуре развивался вид *A. saprophilus*. Этот вид полностью уничтожал мицелий гриба в течение 60 дней, тогда как через 60 дней в пробирках с *A. avenae* и *P. tritici* 45-50 % мицелия оставалось. При этом численность *A. saprophilus* была в 1,5-2 раза выше, чем у *A. avenae* и *P. tritici*.

Оценка действия водной суспензии микогельминтов *A. avenae*, *P. tritici*, *A. saprophilus* на модельных растениях пшеницы, поражённых грибом *M. nivale* при 5° С, в климокамере свидетельствует об ингибировании роста мицелия гриба. Микогельминт *A. saprophilus* полностью уничтожил мицелий в течение 60 дней. *A. avenae* и *P. tritici* - 75-90% мицелия в течение 60 дней.

В полевых условиях, при сравнении трёх видов микогельминтов, вид *A. saprophilus* показал наибольшую эффективность в защите озимой пшеницы от РСП. Число поражённых растений пшеницы снижалось до 80,5 %, тогда как виды *A. avenae*, *P. tritici* снизили до 70,5 и 60,5 %, соответственно.

Разработана технология производства препарата Микогельм включающая в себя культивирование *A. saprophilus*, массовое размножение на грибе *A. tenuis* на матрасах и колбах, получение препарата и внесение при норме 100 000 экз. (± 20)/м² на поверхность поражённых РСП растений озимой пшеницы.

Внесение препарата на посевы озимой пшеницы, поражённой РСП, способствовало снижению поражения с 58,8 до 17,7 % и повышению продуктивности до 359,7 г/м². Биологическая эффективность препарата в борьбе с РСП пшеницы составила 69,8 %, хозяйственная эффективность – 28,7 %.

Таким образом, в экспериментальных и полевых условиях, установлено влияние микогельминта *A. saprophilus* в уменьшении развития РСП, предложена технология производства препарата Микогельм и показана эффективность его применения в борьбе с РСП озимой пшеницы.

РЕКОМЕНДАЦИИ НАУЧНЫМ УЧРЕЖДЕНИЯМ И ПРОИЗВОДСТВУ

Разработанную математическую модель прогноза продуктивности озимой пшеницы в зависимости от интенсивности развития розовой снежной плесени (РСП) на ней, рекомендуется использовать для защиты растений в Центральном федеральном округе РФ, Северо-западном федеральном округе, Уральском федеральном округе и др., где РСП озимой пшеницы имеет значительное распространение. Также, эту прогностическую модель можно применять в учебных целях при подготовки студентов по специальности «Защита и карантин растений».

В соответствии с «Методическими рекомендациями по разработке и применению биопрепарата Микогельм» этот препарат применяется в норме 100 000 экз. нематод в 1 л/м² по очагам РСП озимой пшеницы в осенний период, непосредственно перед установлением постоянного снегового покрова, что способствует снижению интенсивности развития РСП в зимне-весенний период и повышению продуктивности озимой пшеницы.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК

1. Щуковская, А.Г. Возможность использования нематод-микогельминтов в снижении поражения озимой пшеницы розовой снежной плесени (возб. гриб *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett)/ О.Б. Ткаченко, А.А. Шестепёров// Защита и карантин растений. - 2013. - № 11. - С. 24-26. (Импакт-фактор РИНЦ 0,115)
2. Щуковская, А.Г. Применение микогельминта *Aphelenchoides saprophilus* для уменьшения степени поражения розовой снежной плесенью *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett)/ О.Б. Ткаченко, А.А. Шестепёров // Российский паразитологический журнал. - 2014. - № 2 - С. 114. (Импакт-фактор РИНЦ 0,049)

3. Щуковская, А.Г. Снежные плесени: развитие представлений и способы защиты растений [Snow molds: history of the study and control]/ О.Б. Ткаченко, А.В. Овсянкина Сельскохозяйственная биология [Agricultural Biology]. - 2015. - № 1. - С. 16-29. (Rus, Eng.) (Импакт-фактор РИНЦ 0,496).

Статьи в периодических научных изданиях и в материалах научных мероприятий

1. Щуковская, А.Г. Низкотемпературная микотрофная нематода *Aphelenchoides saprophilus* – потенциальный биоагент для борьбы с розовой снежной плесенью/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров// Тез. докл. VIII Молодежной конф. ботаников в Санкт-Петербурге, БИН РАН, 17-21 мая, 2004. – СПб. - 2004. - С. 78.
2. Щуковская, А.Г. Фитонематоды озимой пшеницы, пораженной фузариозной снежной плесенью/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров// Мат. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», посвященной 100-летию со дня рождения Владимира Степановича Ершова, Москва, 2004. - Вып. 5. -С. 437-440.
3. Щуковская, А.Г. Влияние низкотемпературных нематод на развитие розовой снежной плесени (возб. гриб *Microdochium nivale* Samuels et Hallett)/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров// Сб. статей молодых ученых «Общие вопросы ботаники», посв. 60-летию ГБС им. Н.В. Цицина РАН. М.: Геос., 2005. - С.137-141.
4. Щуковская, А.Г. Фауна нематод озимой пшеницы сорта Лютесценс 147 пораженной розовой снежной плесенью в Истринском районе Московской области/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров // Мат. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М. ВИГИС, 2012. - Вып. 13. - С. 463-466.
5. Щуковская, А.Г. Микогельминты озимой пшеницы – потенциальные биоагенты гриба *Microdochium nivale*/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров // Мат. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». М. ВИГИС. 2012. - Вып. 13. - С. 466-468.
6. Щуковская, А.Г. Нематоды озимой пшеницы внешне здоровой и поражённой розовой снежной плесенью (возбудитель гриб *Microdochium (Fusarium) nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett)/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров // Мат. Межд. науч. конф. «Современные проблемы общей паразитологии» (30 октября – 1 ноября 2012 г., Москва). М. - С. 397-401.
7. Щуковская, А.Г. Влияние розовой снежной плесени (возбудитель гриб *Microdochium (Fusarium) nivale* (Fr.) Samuels et I.C. Hallett) озимой пшеницы на динамику численности нематод разных экологических групп/ А.Г. Щуковская, А.Г. Щуковская// Мат. Межд. науч. конф. «Современные проблемы общей паразитологии» (30 октября – 1 ноября 2012 г. Москва). М. - С. 401-404.
8. Shchukovskaya, A.G. Psychrotolerant mycohelminths *Aphelenchus avenae*, *Aphelenchoides saprophilus*, and *Paraphelenchus tritici* as potential bioagents against pink (*Microdochium nivale*) and speckled (*Typhula ishikariensis*) snow molds/ A.G. Shchukovskaya, A.A. Shestepyorov, A.V. Babosha, A.S. Ryabchenko, O.B. Tkachenko// Proc. of

Int. Conf. «Plant and Microbe Adaptations to Cold 2012» June 24-28, 2012. - Hokkaido University. - P. 87.

9. Щуковская, А.Г. Размножение микогельминтов *Aphelenchus avenae*, *Aphelenchoides saprophilus*, *Paraphelenchus tritici* на мицелии гриба *Microdochium nivale*, возбудителя розовой снежной плесени озимой пшеницы/ А.Г. Щуковская, О.Б. Ткаченко, А.А. Шестепёров// Мат. 10 Межд. нематологического симпозиума. Большие Вязёмы: Всероссийский Научно-исследовательский Институт Фитопатологии, - 2013. - С. 83-85.

10. Щуковская, А.Г. Влияние розовой снежной плесени на урожайность озимой пшеницы/ А.Г. Щуковская, А.В. Ловагина, Е.А. Колесов// Актуальные вопросы агрономической науки в современных условиях. Мат. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов, молодых ученых агрономического факультета. - 2013. - Вып. 8. - С. 49-52.

11. Щуковская, А.Г. Применение микогельминтов в снижении развития розовой снежной плесени на озимой пшенице/ А.Г. Щуковская, О.Б. Ткаченко, А.А. Шестепёров// Тез. III Всеросс. съезда по защите растений. ВИЗР. 16-20 декабря 2013. - Т. 2. - С. 418-421.

12. Щуковская, А.Г. Эффективность применения фунгицида Альто-Супер в борьбе против снежной плесени на газонных травах./ А.Г. Щуковская, А.В. Почекин// Мат. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов, молодых ученых агрономического факультета. РГАЗУ. - 2014. - Вып. 9. - С. 66.

13. Щуковская, А.Г. Сапробиотическая нематода *Panogralaimus rigidus* (Schneider, 1886) – возможный биоагент против фитопатогенного гриба *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett), вызывающего розовую снежную плесень/ А.Г. Щуковская, Е.А. Колесова, А.А. Шестепёров, О.Б. Ткаченко// Вестник Российского Государственного Аграрного Заочного Университета. - 2014. - № 15 (20). - С. 39.

14. Щуковская, А.Г. Факторы агротехнологии возделывания озимых зерновых как естественный контроль за развитием фитопатогенных грибов, в условиях Юрьев-Польского государственного сортоиспытательного участка/ А.Г. Щуковская, С.В. Герасимов, О.Б.Ткаченко, А.А. Шестепёров// Труды Центра паразитологии. Т. XLVIII: Систематика и экология паразитов (отв. ред.: С.О. Мовсесян). - 2014. - С. 343.

15. Щуковская, А.Г. Способ биозащиты озимой пшеницы от розовой снежной плесени (возб. гриб *Microdochium nivale* (Fr.) Samuels & I.C. Hallett)/ А.Г. Щуковская, О.Б.Ткаченко, В.П. Упилниек, Н.П. Кузьмина, А.А. Шестепёров// Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии применения биологических средств защиты растений в производстве органической сельскохозяйственной продукции». Краснодар. Выпуск 8. 16-18 сентября 2014 г. - С. 306.

16. Щуковская, А.Г. Контроль популяции возбудителя розовой снежной плесени озимой пшеницы с помощью микогельминтов/ А.Г. Щуковская, О.Б. Ткаченко, В.П. Упилниек, Н.П. Кузьмина, А.А. Шестепёров// Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Инновационные технологии применения биологических средств защиты расте-

ний в производстве органической сельскохозяйственной продукции». Краснодар. 16-18 сентября 2014 г. - Вып. 8. - С.306.

17. Щуковская, А.Г. Вредоносное значение розовой снежной плесени на посевах озимых зерновых в Московской области и разработка безопасных защитных мероприятий/ А.Г. Щуковская, О.Б. Ткаченко, В.П. Упилниек, А.А. Шестепёров, А.В. Овсянкина// Сб. тез. 7 конгресса по защите растений «Интегрированная защита растений научно обоснованный шаг к устойчивому развитию сельского хозяйства, лесоводства и пейзажной архитектуре» Златибор, Сербия 24-28 ноября 2014 г. - С. 155-157.

18. Щуковская, А.Г. Возбудители снежных плесеней и контроль их численности биологическим методом/ А.Г. Щуковская, О.Б. Ткаченко// Современная микология в России. Том 5. Ред.: Ю.Т. Дьяков, Ю.В. Сергеев. Материалы III Международного микологического форума. Москва. 14-15 апр. - 2015 г. М.: Нац. акад. микол. 2015. - Том. 5. - С.152-153.

Патенты

(авторские свидетельства)

1. Шестепёров А.А., Ткаченко О.Б., **Щуковская А.Г.**, Овсянкина А.В. Патент на изобретение № 2548199 Способ получения биологического препарата для защиты озимых зерновых культур от розовой снежной плесени *Microdochium nivale*. Государственное научное учреждение (ГНУ) Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрабина (ВИГИС) Россельхозакадемии (RU), Федеральное государственное бюджетное учреждение науки (ФГБУН) Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС) (RU). Заявка № 20141001283. Приоритет изобретения 17 января 2014 г. Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 19 марта 2015 г. Срок действия патента истекает 17 января 2034 г.