

На правах рукописи

Таболин Сергей Борисович

**НЕМАТОДНО - МИКОЗНЫЕ ИНФЕКЦИИ РИЗОСФЕРЫ ЯГОДНЫХ
КУЛЬТУР И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ БОРЬБЫ С НИМИ**

Специальность: 03.02.11 – паразитология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Москва – 2010

Работа выполнена в Лаборатории фитопаразитологии Центра паразитологии Учреждения Российской Академии наук Института проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН

Научный руководитель: главный научный сотрудник Центра паразитологии ИПЭЭ РАН, доктор биологических наук Н.Д. Романенко

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук Н.Б. Теренина

кандидат биологических наук, доцент С.Н. Кручина

Ведущая организация: Российский Университет Дружбы народов

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2010 года в «_____» часов на заседании диссертационного совета Д 002.213.03 при Учреждении Российской Академии наук в Институте проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, Факс: (495) 9523146, e-mail: centrparasitol@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской Академии наук Института проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Автореферат разослан « _____ » апреля 2010 года

Размещён на сайте ВАК www.sevin.ru

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Т.А. Малютина

Актуальность темы. В мире культурные насаждения страдают от поражения более чем 4000 видами паразитических нематод (Weischer and Brown, 2000). Они вызывают потери около 12,3% общемировой сельскохозяйственной продукции (Sasser and Freckman, 1987), при этом экономический ущерб превышает 125 миллиардов долларов США в год (Chitwood, 2003). Помимо прямого ущерба нематоды способствуют распространению грибных, вирусных и бактериальных инфекций, снижающих урожайность на 50- 80 %. При совместном поражении растений микобиотой и нематодами последние «открывают ворота инфекции». Нематоды разрушают растительную ткань в результате двигательной и пищевой активности, благодаря наличию специальных структур – стилета (или копыя) и секреторных выделений, вырабатываемых железами базального бульбуса пищевода (Weischer and Brown, 2000). Вторичный вред причиняется микроорганизмами, проникающими в корневую ткань через оставленные нематодами отверстия. В естественных и агроценозах наибольший патогенный эффект наблюдается при комплексном поражении корней растений ранящими нематодами рода *Pratylenchus* и грибами- возбудителями корневых и прикорневых гнилей (Ferraz and Brown, 2002).

В России в последние годы наблюдается резкое увеличение заражённости насаждений ягодных культур комплексной нематодно- микозной инфекцией. Это вызвано продолжающимся географическим распространением паразитических организмов, связанным с ослаблением фитосанитарного контроля, и подъёмом численности наиболее опасных их групп в результате снижения пестицидного пресса в агроценозах. Несмотря на это, в условиях Центрального региона РФ комплексные исследования ризосферной нематофауны таких значимых культур как земляника садовая и смородина чёрная не проводились с 70-х годов, микобиоты с начала 90-х годов прошлого века, а взаимодействие этих компонентов не изучались вовсе. В связи с этим изучение ризосферной нематофауны и микобиоты, а также взаимодействий между их компонентами, оценка их вредоносности в агро- и естественных ценозах на территории Центрального региона РФ является актуальной проблемой, имеющей не только научное, но и практическое значение.

Цель исследований. Работа была направлена на изучение видового состава возбудителей нематодно- микозных инфекций смешанного типа, изучение их взаимоотношений и разработку биологических способов борьбы с ними на ягодных культурах (землянике садовой и смородине чёрной).

При этом были поставлены следующие задачи:

- 1) Провести комплексные исследования нематофауны и микобиоты ризосферы земляники садовой, смородины чёрной и сопряжённых с ними ценозах;
- 2) Установить трофическую принадлежность выявленных видов- представителей нематофауны и микобиоты;
- 3) Выявить ассоциативные комплексы нематод и грибов, установить корреляционную зависимость между их распространением в данных ценозах;
- 4) Установить роль нематод в распространении представителей патогенной микобиоты;
- 5) Оценить нематодцидную и фунгицидную активность различных штаммов грибов и бактерий из рабочей коллекции Лаборатории фитопаразитологии ЦП ИПЭЭ РАН, установить возможность их применения с целью подавления нематодно-микозных инфекций на ягодных культурах.

Научная новизна. В результате проведённых в 2006-2009 годах исследований ризосферы земляники садовой и смородины чёрной получены актуальные данные о видовом составе нематофауны и микобиоты, включая наиболее опасные группы фитопаразитов, оценена вредоносность их компонентов, изучено распространение каждой из названных групп паразитов в отдельности. Следует отметить, что комплексные исследования нематофауны земляники садовой и смородины чёрной в условиях Центрального региона РФ не проводились с 70-х годов (Овечников, 1972; Белозёрова,

1976; Метлицкий, Романенко, 1971; Метлицкий, 1979), а ризосферной микобиоты с начала 90-х годов прошлого века (Соловых, 1998; Головин, 1991, 1993).

Впервые рассмотрен вопрос о взаимодействиях представителей нематофауны и микобиоты в ризосфере земляники садовой, смородины чёрной и в сопряжённых с данными культурами ценозах на территории Центрального региона РФ.

Впервые проведена оценка биологической активности штаммов грибов и бактерий из рабочей коллекции Лаборатории фитопаразитологии ЦП ИПЭЭ РАН на нематод и изоляты патогенной микобиоты, выделенные из ризосферы ягодных культур.

Основные положения, выносимые на защиту: Видовой состав; трофическое группирование; пространственное распространение компонентов нематофауны и микобиоты ризосферы земляники садовой и смородины чёрной, включая наиболее опасные группы фитопаразитов; их ассоциативные комплексы (на примере различных ценозов); роль нематод в распространении микозных инфекций.

Оценка биологической и хозяйственной эффективности штаммов грибов и бактерий - антагонистов на ягодных культурах.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на Международной научной конференции «Естественные и инвазийные процессы формирования биоразнообразия водных и наземных экосистем» (ЮФУ, Ростов-на-Дону, 2007); Международной научной конференции "Инновационные направления в питомниководстве плодовых культур (Москва, ГНУ ВСТИСП РАСХН, 2007); Всероссийской конференции «Молодые учёные - садоводству России в 21 веке» (Москва, ГНУ ВСТИСП РАСХН, 2007); Международной конференции на 7- съезде Российского Общества Нематологов «Нематоды естественных и трансформированных экосистем (Институт биологии Карельского отделения РАН, Петрозаводск, 2007); Международном научно-практическом совещании «Паразитические нематоды растений. Биоразнообразие, изучение, коллекции» (ВНИИФ, М.О., Голицино, 2008); Всероссийской научной конференции молодых учёных – экологов (Москва, 2008); 3-ей Международной Российско-польской школе молодых учёных – экологов (Польша, г. Закопане, 2008); XV Всероссийском совещании по почвенной зоологии (ИПЭЭ РАН, Москва, 2008); Международной научной конференции «Биоразнообразие и экология паразитов наземных и водных ценозов» (ЦП ИПЭЭ РАН, Москва, 2008); Международной науч. конференции студентов, аспирантов и молодых учёных "Ломоносов-2009" (МГУ, Москва, 2009).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 17 печатных работ, 5 из которых в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК РФ, как в области биологии, так и сельского хозяйства.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав, выводов, списка литературы и приложений. Материалы диссертации изложены на 130 страницах машинописного текста, содержат 21 таблицу, 5 рисунков, 6 диаграмм и 1 схему; список использованных источников включает 206 наименований, из которых 155 - зарубежная литература.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В литературном обзоре обоснованы актуальность и основные направления исследований, проведён анализ зарубежной и отечественной литературы по вопросам, касающимся видового состава, трофической специализации, вредоносности нематод и грибов- паразитов ризосферы земляники садовой и смородины чёрной, рассмотрены вопросы их взаимодействия. Обобщены сведения о нематодной и фунгицидной активности, хозяйственной эффективности использования грибов и бактерий – антагонистов в борьбе с этими опасными патогенами.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Место и условия проведения экспериментальной работы

Сбор почвенных и растительных образцов проводили в период с 2006 по 2009 годы на лабораторном участке ГНУ ВСТИСП в п. Измайлово (Ленинский район Московской области), на опытном поле ГНУ ВСТИСП в п. Михнево (Ступинский район Московской области) и на стационаре ЦП ИПЭЭ РАН в Талдомском районе. С целью сравнительного изучения нематофауны и микобиоты естественного и агроценозов были отобраны образцы из разнотравно-злакового лугового ценоза на территории ООО "Заокские питомники" (левобережье Приокской поймы Заокского района Тульской области). Помимо этого, с целью изучения пространственного распространения немато-микозной инфекции был проведён анализ образцов, отобранных в южном регионе РФ- с паровых полей (после раскорчёвки плодово-ягодных насаждений) ООО «Сады Чечни» Грозненского района Чеченской республики.

Почвы исследованных насаждений ВСТИСП в Ленинском и Ступинском районах и стационара ЦП ИПЭЭ РАН в Талдомском районе Московской области - дерново-подзолистые на среднетяжёлом суглинке. В первом случае pH= 4,6 - 6,2, во втором – pH= 5,9-6,5. На участке ООО "Заокские питомники" (Левобережье Приокской поймы Заокского района, Тульской области) почва светло-серая лесная среднесуглинистая на покровных суглинках с pH 5,5-6,5. На участке ООО НПФ «Сады Чечни» Грозненского района Чеченской Республики почва светло-каштановая с pH 8,0-8,5.

С описанных выше стационаров ВСТИСП и стационара ЦП ИПЭЭ РАН в Талдомском районе Московской области в период 2006-2009 годов осуществляли регулярный отбор почвенных и растительных образцов из ризосферы исследуемых культур. На участке ООО "Заокские питомники" сбор материала проведён в начале октября 2007 г., а на участке ООО НПФ «Сады Чечни» Грозненского района Чеченской Республики - 8-11 июня 2009 г. Отбор почвенных образцов осуществляли методами конверта и нематологического картирования путём приготовления смешанных образцов (Метлицкий, 1979). Всего было отобрано 1240 почвенных и растительных образцов, из которых приготовлено свыше 5,5 тысяч проб с нематодами, проанализировано свыше 500 постоянных и свыше 1,5 тысяч временных препаратов. Анализ материала проводили в Лаборатории фитопаразитологии Центра паразитологии ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН и Лаборатории нематологии Отдела защиты растений Всероссийского Селекционно-Технологического Института Садоводства и Питомниководства Россельхозакадемии (ГНУ ВСТИСП – РАСХН).

Выделение нематод проводили в трёхкратной повторности по методу Бермана (Гиляров, Стриганова, 1987) и в двукратной по методу Флэгга (Flegg, 1967). Постоянные препараты с нематодами изготавливали по спиртово-глицериновой методике (Seinhorst, 1959). Выделение микобиоты проводили по методикам, описанным Литвиновым (1967).

Опыты по оценке действия грибов и бактерий-антагонистов на нематодный и микозный компоненты проводили как *in vitro* в Лаборатории фитопаразитологии ЦП ИПЭЭ РАН по методике, описанной Ватанаба и Иноэ (Watanabe, Inoue, 1980), так и в полевых условиях на лабораторном участке ГНУ ВСТИСП в п. Измайлово. В опытах *in vitro* по оценке влияния штаммов биоагентов на представителей связанной с нематодами почвенной микобиоты использовали изоляты грибов, выделенные из поражённых тканей растений и почвы на лабораторном участке ГНУ ВСТИСП в пос. Измайлово Московской области.

Для оценки действия биоагентов в полевых условиях штаммы грибов и бактерий вносили в прикорневую почву в виде водных суспензий из расчёта 100 мл содержащих порядка 10^9 конидий (клеток) под 1 тест – растение земляники садовой сорта Тристар (9 растений в варианте) и 1 л суспензии также содержащий порядка 10^9 конидий (клеток) под одно тест-растение смородины чёрной сорта Диковинка (10 растений в варианте).

Внесение суспензий биоагентов в ризосферу растений земляники было однократным, в ризосферу смородины - двукратным, с интервалом в 30 дней. Биологическую эффективность используемых суспензий штаммов грибов и бактерий определяли по наличию фитопаразитических нематод в ризосфере тест – растений. Вегетативную продуктивность обработанных суспензиями биоагентов растений земляники садовой оценивали через 40 дней по выходу усоплетей, укоренённых и не укоренённых розеток в сравнении с необработанным контролем, а растений смородины чёрной- в конце вегетационного периода - сравнивая прирост обработанных и необработанных растений.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Фаунистический комплекс нематод ризосферы земляники садовой

Плотность популяции нематод ризосферы насаждений земляники садовой не была постоянной, а варьировала в зависимости от времени года, почвенных факторов и условий выращивания растений. В среднем в ризосфере обследованных насаждений она составляла 1048 особей в 100 мл субстрата. Наиболее высокая численность нематод была отмечена на торфяных почвах в условиях защищенного грунта, где она достигала 11210 особей в 100 мл. На тяжёлых суглинистых почвах она не превышала 650 особей в 100 мл субстрата. Резкое возрастание численности нематод, обитающих в ризосфере земляники садовой, наблюдали в мае, после чего, в летний период происходила стабилизация на уровне 1000- 1100 особей в 100 мл почвы, в конце сентября отмечали снижение плотности популяции до исходных значений.

Фаунистический комплекс нематод данного ценоза, согласно классификации Мадженти и Джайраджпури, разработанной на основе анализа морфологических признаков (Maggenti, 1991, Jairajpuri and Ahmad, 1992), был представлен видами из 47 родов, принадлежащих к 24 семействам, 7 отрядам и двум классам (таблица 1). При рассмотрении, таксономической принадлежности согласно молекулярно-генетической классификации (De Ley et al., 2006 и De Ley and Blaxter, 2002, 2004), следует принять во внимание то, что некоторые представители семейства Dorylaimidae этими авторами были выделены в отдельное семейство- Thorneinematidae, а отряды Tylenchida и Rhabditida по причине молекулярно- генетического сходства были объединены в один - Rhabditida. Однако, в связи с тем, что в последние годы проведены исследования, демонстрирующие недостоверность части ранее опубликованных молекулярно- генетических данных в частности в отношении грибов (Bridge et al, 2003), бактерий (Sugimoto et al., 2009) и вирусов (Garson et al, 2009) нами при анализе систематического статуса выявленных видов нематод были использованы общепринятые системы нематод разработанные Мадженти, Джайраджпури и др. на основе анализа морфологических признаков.

Согласно трофической классификации нематод (Yeates et al., 1993), выявленные в насаждениях земляники садовой виды были подразделены на 6 групп: 1) фитопаразиты (роды *Helicotylenchus*, *Paratylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchus*, *Trichodorus*, *Longidorus*, *Xiphinema*, личинки *Criconema*), 2) микофитогельминты (роды *Aphelenchoides*, *Aphelenchus*), 3) микогельминты (роды *Agmodorus*, *Aphelenchoides*, *Metaphelenchus*, *Paraseinura*), 4) бактериофаги (роды *Acrobeles*, *Anaplectus*, *Cephalobus*, *Cuticonema*, *Diplogasteroides*, *Mesorhabditis*, *Metacrobeles*, *Prodontorhabditis*, *Eucephalobus*, *Plectus*), 5) многоядные миксотрофы, способные паразитировать на мицелии грибов, питаться бактериями и некоторыми органическими элементами субстрата (роды *Dorylaimus*, *Enchodelus*, *Enchodorella*, *Eudorylaimus*, *Mesodorylaimus*, *Prodorylaimus*, *Thorneinema*), 6) хищники (роды *Mononchus*, *Brachonchulus*, *Mylonchulus*) (табл.1).

Таблица 1. Таксономическое положение и трофическое группирование нематод выявленных в ризосфере земляники садовой (Московская область, 2007-2009 гг.)

Роды нематод	Т.гр.	Семейства	Отряды	
<i>Aglenchus, Filenchus, Tylenchus</i>	Φ* М	Tylenchidae	Tylenchida	Класс Secernentea
<i>Aphelenchoides</i>	МΦ	Aphelenchoididae		
<i>Aphelenchus Paraseinura</i>	М / Φ * М	Aphelenchidae		
<i>Criconema</i>	Φ	Criconematidae		
<i>Paratylenchus</i>	Φ	Paratylenchidae		
<i>Helicotylenchus, Rotylenchus</i>	Φ	Hoplolaimidae		
<i>Metaphelenchus, Paraphelenchus</i>	М	Paraphelenchidae		
<i>Pratylenchus</i>	Φ	Pratylenchidae		
<i>Acrobeloides, Cephalobus, Chiloplacus, Eucephalobus, Metacrobeles</i>	Б	Cephalobidae	Rhabditida	
<i>Cuticonema, Micronema, Panagrolaimus</i>	Б	Panagrolaimidae		
<i>Mesorhabditis, Poikilolaimus, Prodontorhabditis, Rhabditis</i>	Б	Rhabditidae		Класс Adenophorea
<i>Pelodera</i>	Б	Rhabditidae		
<i>Anaplectus, Plectus</i>	Б	Plectidae	Araeolaimida	
<i>Diplogasteroides</i>	Б	Diplogasteridae	Diplogasterida	
<i>Amphidelus</i>	Б	Alaimidae	Dorylaimida	
<i>Agmodorus</i>	М	Leptonchidae		
<i>Dorylaimus, Mesodorylaimus, Prodorylaimus, Thornea</i>	МН	Dorylaimidae		
<i>Aporcelaimus</i>	Х / МН	Aporcelaimidae		
<i>Eudorylaimus, Labronema</i>	МН Х / МН	Qudsianematidae		
<i>Dorylaimoides</i>	МН	Mydonomidae		
<i>Enchodelus, Enchodorella</i>	МН	Nordiidae		Класс Adenophorea
<i>Longidorus, Xiphinema</i>	Φ	Longidoridae		
<i>Trichodorus</i>	Φ	Trichodoridae	Triplonchida	
<i>Mononchus, Brachonchulus, Mylonchulus</i>	Х	Mononchidae	Mononchida	

Примечание: Т.гр.-трофическая группа, Φ- фитопаразиты специфического патогенного эффекта, Φ*- фитопаразиты неспецифического патогенного эффекта, М-микогельминты, Б- бактериофаги, Х- хищники, МН- многоядные

Наиболее многочисленными трофическими группами нематод в ризосфере насаждений земляники садовой в условиях Московской области (на примере насаждений в ГНУ- ВСТИСП в п.Михнево) были бактериофаги (23,8%), хищники (23,2%), из которых значительная часть (12,7%)- факультативные хищники- представители рода *Aporcelaimus* и многоядные (21,3%). Нематоды - фитопаразиты специфического патогенного эффекта в исследованных образцах составляли 15,8%, а фитопаразиты неспецифического патогенного эффекта (роды. *Aglenchus, Filenchus*) - 3,1%.

Среди наиболее опасных представителей паразитической нематофауны в ризосфере земляники были отмечены следующие виды: *Pratylenchus pratensis*, *P. similis*, *P. penetrans*, *P. crenatus*, *Rotylenchus robustus* и *Helicotylenchus digonicus*. При этом *R.*

robustus описывается в ризосфере земляники садовой в условиях Центрального региона РФ впервые. Менее распространённой (по количеству особей в общей фауне) группой были нематоды-вирусоносители родов *Longidorus* и *Xiphinema*, таксономически принадлежащие семейству Longidoridae отряда Dorylaimida класса Adenophorea и нематоды рода *Trichodorus* семейства Trichodoridae отряда Triplonchida класса Adenophorea.

В насаждениях земляники садовой в условиях Московской области, также как и в естественном ценозе в условиях Тульской области, была широко представлена группа хищных нематод рода *Aporcelaimus*, которые помимо хищничества способны питаться как многоядные (Yeates, 1993) и также как примитивные паразиты на корневых волосках (Robertson, 1996). Кроме того, были выявлены нематоды рода *Labronema*, для которых описано питание другими нематодами, в т.ч. фитопаразитическими (Khan and Kim, 2007) и облигатные хищники родов *Mononchus*, *Brachonchulus* и *Mylonchulus*, для которых описано питание на нематодах рода *Tylenchorhynchus* (Khan and Kim, 2007).

3.2. Видовое разнообразие микобиоты насаждений земляники садовой, связь с нематодами

В обследованных насаждениях земляники садовой имели место как сапротрофные (*Penicillium*, *Gliocladium*, пор. *Mucorales*), так и фитопатогенные (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Verticillium*) грибы.

Ассоциативный комплекс фитопаразитических нематод и фитопатогенных грибов ризосферы земляники был представлен нематодами видов *Helicotylenchus digonicus*, *Rotylenchus robustus*, *Pratylenchus crenatus*, *Trichodorus similis* и грибами родов *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*. Корреляция между распространением нематод данных видов и распространением грибов рода *Fusarium* (главным образом *F.oxysporum* ff. spp. и *F. solani*) нередко достигала 100% при их выделении из 80% образцов прикорневой почвы и из 15% образцов корней растений, где не было отмечено присутствие фитопаразитических нематод, т.е. фитопатогенные грибы данного рода присутствовали в живой ткани растений во всех образцах, где наблюдали поражение фитопаразитическими нематодами. Это говорит о том, что данные виды нематод наносили повреждения, через которые фитопатогенные грибы рода *Fusarium* с лёгкостью распространялись по сосудистой системе. При взаимодействии этих вредных организмов отмечали синергетический патогенный эффект. Степень корреляции между распространением выше названных видов нематод и распространением грибов родов *Alternaria*, *Rhizoctonia* была гораздо ниже и составляла около 0,2. При совместном обнаружении нематод- переносчиков вирусов рода *Trichodorus* и фитопаразитических нематод неспецифичного патогенного эффекта корреляции с распространением фитопатогенных грибов не наблюдали, что, по-видимому, связано с характером наносимых повреждений данными видами нематод. Представителей микобиоты рода *Verticillium* в ризосфере земляники отмечали крайне редко (табл.2), в результате чего корреляции между их распространением и распространением фитопаразитических нематод не было выявлено.

Таблица 2. Таксономическое положение и распространённость выявленных представителей микобиоты в ризосфере земляники садовой Измайловского и Михневского отделений ГНУ ВСТИСП (Московская область, Ленинский и Ступинский районы, 2007-2009 гг.)

Вид/род	Т.гр.	Встреч.	Семейства	Классы	Отделы
<i>Actinomucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Mucor</i> <i>sp.</i> , <i>M.parasiticus</i>	С	100	Mucoraceae	Zygomycetes	Zygomycota
<i>Cylindrocarpon</i>	Ф	6	Nectriaceae	Sordariomycetes	Ascomycota
<i>Fusarium sp.</i> , <i>F.oxysporum</i> ff.spp., <i>F.solani</i>	ФФ	80			
<i>Verticillium</i>	Ф	0,6			
<i>Gliocladium</i>	С	47	Hypocreaceae		
<i>Penicillium</i>	С		Trichocomaceae	Eurotiomycetes	
<i>Botrytis cinerea</i>	Ф	1,2	Sclerotiniaceae	Leotiomycetes	
<i>Alternaria</i>	Ф	3,2	Pleosporaceae	Dothideomycetes	
<i>Rhizoctonia sp.</i> , <i>R. solani</i>	Ф	33	Ceratobasidiaceae	Agaricomycetes	Basidiomycota

Примечание: Т.гр.- трофическая группа, Встреч.-встречаемость (в % от общего количества исследованных образцов), Ф-фитопаразиты, ФФ-факультативные фитопаразиты, С-сапротрофы

В результате проведённых исследований установлено, что распространение представителей микобиоты с помощью нематод в ризосфере ягодных культур осуществляется как пассивно, так и активно. Пассивное распространение происходит в случае прилипания спор грибов к поверхности тела нематоды. Так, в наших опытах было выявлено, что подобным способом происходит распространение некоторых муконовых грибов, в частности *Mucor plumbeus* и грибов рода *Penicillium*. Активное распространение наблюдали, как уже было описано выше, в случаях, когда вследствие поражения ранящими нематодами происходило выделение корневых экссудатов, служащих фактором активации представителей патогенной микобиоты, при этом структуры патогенных грибов (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*) использовали для проникновения в ткань растений повреждения оставленные нематодами.

Во всех пробах с нематодами - микогельминтами (*Aphelenchus avenae*, *Paraphelenchus pseudoparietinus*) обнаруживали виды как фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, так и виды сапротрофных родов *Penicillium*, *Gliocladium*, пор. *Mucorales*, что указывает на широкие возможности для их питания. Однако, сопоставляя данные по естественному, незанятому агроценозу и землянике, можно сказать, что питание данной группы нематод осуществляется главным образом на сапротрофных грибах.

3.3. Фаунистический комплекс нематод ризосферы насаждений смородины чёрной

Плотность популяции нематод ризосферы насаждений смородины чёрной варьировала в зависимости от типа почвы, на которой произрастали растения, от возраста насаждений и времени года. Так, при сравнении данных по аналогичным периодам, у растений первого года развития она составляла 450-700 особей на 100 мл и была в 1,5- 2 раза ниже, чем у растений второго года развития. Резкое возрастание численности нематод, обитающих в ризосфере смородины чёрной, наблюдали также и в случае с растениями земляники - в мае – до 1100 особей на 100 мл, после чего в летний период она

варьировала на уровне 1352- 1447 особей в 100 мл почвы. К началу октября численность нематод снижалась почти в два раза и в среднем достигала 768 особей в 100 мл. почвы.

Согласно классификации нематод на основе морфологических признаков (Maggenti, 1991; Jairajpuri and Ahmad, 1992) фаунистический комплекс нематод данного ценоза был представлен видами из 41 рода, принадлежащих к 25 семействам, 7 отрядам, 2 классам (табл.3). Согласно молекулярно-генетической классификации (De Ley et al., 2006 и De Ley and Blaxter, 2002, 2004) количество отрядов равно шести по причине объединения отряда Tylenchida с отрядом Rhabditida.

Таблица 3. Таксономическое и трофическое группирование нематод ризосферы насаждений смородины чёрной выявленных в условиях Московской области (2007-2009 гг.)

Роды	Т.гр.	Семейства	Отряды	
<i>Aglenchus, Flinches</i>	Ф*	Tylenchidae	Tylenchida	Класс Secernentea
<i>Tylenchus</i>	М			
<i>Aphelenchoides</i>	МФ	Aphelenchoididae		
<i>Aphelenchus</i>	М/Ф*	Aphelenchidae		
<i>Ditylenchus</i>	МФ	Anguinidae		
<i>Paraphelenchus</i>	М	Paraphelenchidae		
<i>Pratylenchus</i>	Ф	Pratylenchidae		
<i>Tylenchorhynchus</i>	Ф	Belonolaimidae		
<i>Acrobeles, Acrobelloides, Cephalobus, Chiloplacus, Eucephalobus, Paracephalobus</i>	Б	Cephalobidae	Rhabditida	
<i>Panagrolaimus</i>	Б	Panagrolaimidae		
<i>Mesorhabditis, Rhabditis</i>	Б	Rhabditidae		Класс Adenophorea
<i>Plectus</i>	Б	Plectidae	Araeolaimida	
<i>Diplogaster</i>	МН	Diplogasteridae	Diplogasterida	
<i>Diplogasteroides</i>	Б			
<i>Alaimus</i>	Б	Alaimidae	Dorylaimida	
<i>Agmodorus</i>	М	Leptonchidae		
<i>Dorylaimus, Mesodorylaimus, Prodorylaimus</i>	МН	Dorylaimidae		
<i>Aporcelaimus</i>	Х/МН	Aporcelaimidae		
<i>Belondira</i>	МН	Belondiridae		
<i>Eudorylaimus, Labronema, Witoldinema</i>	МН Х/МН	Qudsianematidae		
<i>Dorylaimoides</i>	МН	Mydonomidae		
<i>Enchodelus, Enchodorella</i>	МН	Nordiidae		
<i>Oxydirus</i>	Ф/МН	Belondiridae		
<i>Xiphinema</i>	Ф	Longidoridae		
<i>Trichodorus</i>	Ф	Trichodoridae	Triplonchida	
<i>Mononchus, Brachonchulus, Mylonchulus</i>	Х	Mononchidae	Mononchida	
<i>Anatonchus (син. Tigronchus)</i>	Х	Anatonchidae		

Примечание: Т.гр.-трофическая группа, Ф- фитопаразиты специфического патогенного эффекта, Ф*- фитопаразиты неспецифического патогенного эффекта, М-микогельминты, Б-бактериофаги, Х- хищники, МН- многоядные

Согласно трофической классификации нематод (Yeates et al., 1993), выявленные в Московской области в ризосфере насаждений смородины виды (роды) нематод были подразделены на 6 групп: 1) фитопаразиты (*Pratylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Trichodorus*, *Xiphinema* и *Oxydirus*- факультативный фитопаразит), 2) микро-фитогельминты (*Aphelenchoides*, *Aphelenchus*, *Ditylenchus*), 3) микогельминты (*Agmodorus*, *Paraphelenchus*, *Tylenchus*), 4) бактериофаги (*Acrobeles*, *Cephalobus*, *Chiloplacus*, *Diplogasteroides*, *Eucephalobus*, *Paracephalobus*, *Mesorhabditis*, *Plectus*, *Rhabditis*), 5) многоядные миксотрофы, способные паразитировать на мицелии грибов, питаться бактериями и некоторыми органическими элементами субстрата (*Diplogaster*, *Dorylaimus*, *Mesodorylaimus*, *Prodorylaimus*), 6) хищные нематоды (*Mononchus*, *Brachonchulus*, *Mylonchulus*, *Anatonchus*).

Наиболее многочисленными трофическими группами нематод в ризосфере насаждений смородины чёрной, на примере участка в ГНУ ВСТИСП РАСХН, в поселке Измайлово в Ленинском районе Московской области были бактериофаги (26,2%) и хищники (25 %), из которых значительная часть (8%)- факультативные хищники-представители рода *Aporcelaimus* и микогельминты (22,7%). Фитопаразиты специфического патогенного эффекта составляли 6,3 % от общей популяции, среди них отмечены особи следующих видов: *Paratylenchus nanus*, *Pratylenchus penetrans*, *P. pratensis* и представители рода *Trichodorus*.

В насаждениях смородины чёрной, также как и в естественном ценозе, была широко представлена группа хищных нематод: 1) рода *Aporcelaimus*, которые помимо хищничества, в т.ч. на нематодах родов *Aphelenchoides*, *Longidorus*, *Trichodorus* и *Xiphinema* (Khan and Kim, 2007), способны питаться как многоядные (Yeates, 1993), а также как примитивные паразиты на корневых волосках (Robertson, 1996), 2) родов *Witoldinema*, *Labronema*, для которых описано питание на других нематодах, в т.ч. фитопаразитических (Khan & Kim, 2007) и 3) облигатных хищников родов *Mononchus*, *Brachonchulus*, которые способны питаться на нематодах родов *Pratylenchus*, *Paratylenchus*, *Aporcelaimus*, *Acrobeloides*, *Rhabditis*, *Chiloplacus* и рода *Mylonchulus*- для которых описано питание на нематодах рода *Tylenchorhynchus* (Gaugler and Bilgrami, 2004).

3.4. Видовое разнообразие микобиоты насаждений смородины чёрной, связь с нематодами

Ассоциативный комплекс фитопаразитических нематод и фитопатогенных грибов ризосферы насаждений смородины чёрной был представлен фитопаразитическими нематодами: *Paratylenchus nanus*, *Pratylenchus penetrans*, *P. pratensis*, *Trichodorus* spp., *Xiphinema* spp. и грибами рода *Fusarium*, в основном, *F. oxysporum* ff.spp. и *F. sporotrichioides*. При этом, синергетический патогенный эффект наблюдали, главным образом, в очагах *Pratylenchus* spp.

При весеннем укоренении черенков отмечали значительно большее количество выпадов черенков в присутствии эндопаразитических нематод рода *Pratylenchus*, нежели чем без них, при этом в погибших черенках чаще всего обнаруживали грибы *Nectria cinnabarina*. В данном случае нематоды, по-видимому, лишь способствовали ухудшению физиологического состояния укореняющихся черенков, делая их более восприимчивыми к инфекции, но сами в распространении микозной инфекции, по-видимому, не участвовали.

Ряд представителей микобиоты (*Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Trichothecium roseum*, виды пор. *Mucorales*) поражали только физиологически ослабленные растения, поэтому связь данных видов с паразитическими нематодами является вторичной, а эти виды следует рассматривать отдельно, как гемибиотрофы. Представителей рода *Cladosporium* в значительной степени выделяли из прикорневой почвы. Однако в живой ткани присутствие данного гриба не отмечено.

Таблица 4. Таксономическое положение и распространённость представителей микобиоты ризосферы смородины чёрной, выявленных в условиях защищенного и открытого грунта (ГНУ ВСТИСП, Московская область, 2009 г)

Виды/роды	Т.гр.	Встреч.	Семейства	Классы	Отделы
<i>Actinomucor</i> , <i>Mucor</i> , <i>Thamnidium</i>	С	100	Mucoraceae	Zygomycetes	Zygomycota
<i>Alternaria</i> sp., <i>A. alternata</i>	Ф*	30	Pleosporaceae	Dothideomycetes	Ascomycota
<i>Cladosporium</i>	ФФ	43	Davidiellaceae		
<i>Botrytis cinerea</i>	Ф	12	Sclerotiniaceae	Leotiomycetes	
<i>Fusarium</i> sp., <i>F.oxysporum</i> ff.spp. <i>F. sporotrichioides</i>	ФФ	95	Nectriaceae	Sordariomycetes	
<i>Trichothecium</i> <i>roseum</i>	Ф*	3	incertae sedis		

Примечание: Встреч.-встречаемость (в % от общего количества исследованных образцов), С-сапротрофы, Ф-фитопаразиты, ФФ-факультативные фитопаразиты, Ф*-слабые фитопаразиты/ гемибиотрофы

Во всех пробах, где были обнаружены нематоды-микогельминты *Aphelenchus avenae*, *Paraphelenchus pseudoparietinus* отмечали присутствие как фитопатогенных грибов (род *Fusarium*), так и сапротрофных (роды *Gliocladium*, *Penicillium*, пор. *Mucorales*), что, по-видимому, указывает на возможность широкого выбора источника питания для данной группы нематод.

3.5. Пространственное распространение паразитических нематод и связанной с ними патогенной микобиоты

В результате изучения фауны нематод различных типов ценозов, включая естественный разнотравно-злаковый луговой ценоз, паровые поля под маточники и питомники ягодных культур, насаждения земляники садовой и смородины чёрной установлены как сходство, так и различия в фаунистических комплексах исследованных ценозов. Выявлены виды паразитических нематод, которые могут переходить из естественного ценоза в насаждения земляники садовой и смородины чёрной, а также виды, являющиеся общими для обеих этих культур.

Установлено, что корневые эндопаразитические нематоды *Pratylenchus pratensis*, *P. similis*, встречающиеся в виде отдельных очагов в условиях Центрального региона РФ в естественных разнотравно - злаковых ценозах способны переходить на растения земляники, при этом очаговый характер их распространения переходит в диффузный за счёт приобретения более подходящей кормовой базы. Другие виды, в частности *Xiphinema brevicollum*, способны переходить из естественного ценоза как на посадки земляники, так и на смородину. Также отмечено, что ряд видов, таких как *Rotylenchus robustus*, *Pratylenchus pratensis*, *P. penetrans* способен длительное время после возделывания культурных растений существовать в виде небольшого очага в условиях парового поля. После возвращения культурных растений на данные поля эти паразиты начинают быстро распространяться и их распространение приобретает диффузный характер. В целом, для ризосферы исследованных видов растений- хозяев (земляники и смородины) отмечен высокий уровень сходства их нематофауны (31 общий род) (табл.5). При этом коэффициент фаунистического сходства, рассчитанный по формуле Жаккара (Jaccard, 1901), I=0,54.

Таблица 5. Сравнительный анализ фауны нематод ризосферы земляники садовой и смородины чёрной (Московская область, 2007-2009 гг..)

Отряды нематод	Число родов		Σ общ.	Роды, выявленные на землянике	Роды, выявленные на смородине
	Земляника	Смородина			
Araeolaimida	2	1	1	<i>Anaplectus, Plectus</i>	<i>Plectus</i>
Mononchida	3	4	3	<i>Mononchus</i> <i>Brachonchulus</i> <i>Mylonchulus</i>	<i>Mononchus</i> <i>Brachonchulus</i> <i>Mylonchulus</i> <i>Anatonchus</i> (син. <i>Tigronchus</i>)
Dorylaimida	14	15	11	<i>Amphidelus, Agmodorus</i> <i>Aporcelaimus</i> <i>Eudorylaimus</i> <i>Dorylaimus</i> <i>Dorylaimoides</i> <i>Enchodelus</i> <i>Enchodorella</i> <i>Mesodorylaimus</i> <i>Prodorylaimus</i> <i>Thornenema</i> <i>Labronema, Longidorus</i> <i>Xiphinema</i>	<i>Alaimus, Agmodorus</i> <i>Dorylaimus</i> <i>Mesodorylaimus</i> <i>Prodorylaimus</i> <i>Aporcelaimus</i> <i>Belondira</i> <i>Eudorylaimus</i> <i>Labronema</i> <i>Witoldinema</i> <i>Dorylaimoides</i> <i>Enchodelus</i> <i>Enchodorella</i> <i>Oxydirus</i> <i>Xiphinema</i>
Rhabditida	13	9	7	<i>Acrobeloides</i> <i>Cephalobus, Chiloplacus</i> <i>Eucephalobus</i> <i>Metacrobes</i> <i>Cuticonema, Micronema</i> <i>Panagrolaimus</i> <i>Mesorhabditis</i> <i>Poikilolaimus</i> <i>Prodontorhabditis</i> <i>Rhabditis, Pelodera</i>	<i>Acrobeles</i> <i>Acrobeloides</i> <i>Cephalobus</i> <i>Chiloplacus</i> <i>Eucephalobus</i> <i>Paracephalobus</i> <i>Panagrolaimus</i> <i>Mesorhabditis</i> <i>Rhabditis</i>
Tylenchida	13	9	7	<i>Aglenchus, Filenchus</i> <i>Tylenchus</i> <i>Aphelenchoides</i> <i>Aphelenchus</i> <i>Paraseinura, Criconema,</i> <i>Paratylenchus</i> <i>Helicotylenchus</i> <i>Rotylenchus</i> <i>Metaphelenchus</i> <i>Paraphelenchus</i> <i>Pratylenchus</i>	<i>Aglenchus</i> <i>Flinches</i> <i>Tylenchus</i> <i>Aphelenchoides</i> <i>Aphelenchus</i> <i>Ditylenchus</i> <i>Paraphelenchus</i> <i>Pratylenchus</i> <i>Tylenchorhynchus</i>
Diplogasterida	1	2	1	<i>Diplogasteroides</i>	<i>Diplogaster</i> <i>Diplogasteroides</i>
Triplonchida	1	1	1	<i>Trichodorus</i>	<i>Trichodorus</i>
Σ	47	41	31		

Среди одних и тех же представителей фитопатогенной микобиоты ризосферы земляники и смородины отмечали лишь *Fusarium oxysporum* ff. spp., остальные - являлись либо специфичными для какого-либо одного хозяина, либо вторичными, поражающими ослабленные растения.

Таблица 6. Пространственное распространение паразитических нематод и ассоциированной с ними патогенной микобиоты на обследованных участках

Виды, выявленных паразитических нематод	Центральный регион				Южный регион
	Естественный ценоз	Паровое поле	Насаждения земляники	Насаждения смородины	Паровое поле (ЧР)
<i>Helicotylenchus digonicus</i>	О (Dor.)	О (F.)	Д (F.)	-	Д (F.)
<i>Heterodera trifolii</i>	-	-	-	-	Д
<i>L. elongatus</i>	-	-	О	-	-
<i>L. attenuatus</i>	-	-	О	-	-
<i>Oxydirus</i> sp.	О (Dor.)	-	-	-	-
<i>Paratylenchus nanus</i>	-	-	-	О	-
<i>Paratylenchus curvatus</i>	-	-	-	-	Д
<i>Pratylenchus penetrans</i>	-	О (F.)	Д (F.)	О	-
<i>P.pratensis</i>	О (Dor.)	О (F.)	Д (F.)	О (F.)	-
<i>P.similis</i>	О (Dor.)	-	Д (F.)	-	-
<i>P. crenatus</i>	-	О (F.)	О (F.)	-	-
<i>Rotylenchus</i>	О (Dor.)	-	-	-	-
<i>R. robustus</i>	-	О (F.)	Д (F.)	-	Д
<i>Trichodorus similis</i>	-	-	О	О	-
<i>T.primitivus</i>	-	-	О	О	-
<i>Tylenchorhynchus</i> spp.	-	-	-	О	Д
<i>Tylodorus acuminatus</i>	-	О (F.)	-	-	-
<i>Xiphinema brevicollum</i> (син. <i>X. taylori</i>)	О (Dor.)		О	О	-
<i>X.diversicaudatum</i>	-	-	О	О	Д (F.)
<i>X.index</i>	-	-	-	-	О
<i>X.pachtaicum</i>	-	-	-	-	О (R.)

Примечание: О-очаговый характер распространения, Д- диффузный характер распространения; случаи, где степень корреляции между распространением паразитических нематод и патогенных микромицетов была выше 0,5 отмечены указанием соответствующих родов в скобках: Dor.- *Doratomyces*, F.-*Fusarium*, R.- *Rhizoctonia*

В результате изучения пространственного распределения фауны нематод установлено, что почти все виды- представители фитопаразитической фауны нематод (*Helicotylenchus digonicus*, *Pratylenchus pratensis*, *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus penetrans*, *Rotylenchus robustus*) отмеченные нами в паровых полях ГНУ ВСТИСП п. Михнево Московской области в Центральном регионе были выделены и из Южного региона РФ - из образцов, поступивших на анализ с участка парового поля под маточник

плодово-ягодных культур из Чеченской республики. Кроме того, в паровых полях ООО «Сады Чечни» помимо указанных выше видов были отмечены *Paratylenchus nanus*, *Xiphinema pachtaicum*, *Xiphinema diversicaudatum* и *X. index*- редко или совсем не встречавшиеся в паровых полях нашей зоны.

Кроме того, в условиях незанятого агроценоза Центрального и Южного регионов были выявлены представители почвенных микромицетов, в основном, одних и тех же родов: *Arthrobotrys*, *Aspergillus*, *Doratomyces*, *Fusarium*, *Gliocladium* и порядка *Mucorales*. При этом в условиях незанятого агроценоза Южной зоны РФ были отмечены следующие ассоциации фитопаразитических нематод и фитопатогенных грибов: 1) *Helicotylenchus digonicus*, *Xiphinema diversicaudatum* – *Fusarium sambucinum* и 2) *Xiphinema pachtaicum* – *Rhizoctonia solani*.

3.6. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ БОРЬБЫ С НЕМАТОДНО-МИКОЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ НА ЯГОДНЫХ КУЛЬТУРАХ

На протяжении периода 2006- 2009 гг. нами проведена *in vitro* и *in vivo* оценка биологической и хозяйственной эффективности и активности антагонистического действия штаммов грибов и бактерий из коллекции Лаборатории фитопаразитологии ЦП ИПЭЭ РАН на представителей нематофауны и микобиоты ризосферы ягодных культур. О токсическом действии биоагента на нематод можно говорить не только в том случае - если происходят гибель взрослых особей, нарушения развития яиц и личинок, ведущие к сокращению популяции, но и возникают нарушения двигательной активности нематод. При этом необходимо учитывать, что существуют определённые виды грибов, питание нематод на которых не возможно вследствие трофической несовместимости.

В опытах *in vitro* с внесением нематод-бактериофагов рода *Eucephalobus* в чистые культуры бактерий на картофельном и картофельно-сахарозном агаре нами не отмечено ни одного штамма биоагента из испытанных нами, который вызывал бы массовую гибель нематод или нарушения их двигательной активности. Однако количество особей в контроле (без обработки биоагентами) было выше, что явно указывает на выработку биоагентами (главным образом- *Bacillus thuringiensis* 132, *Pseudomonas fluorescens* AR-33, *P. putida* 1-04) веществ, являющихся ингибиторами развития нематод. В процессе наблюдений также было установлено, что на представителей микобиоты грибы-антагонисты, по сравнению с бактериями – антагонистами, оказывали более заметное действие. Так, для штаммов гриба – антагониста *Trichoderma viride* (R и MC-10) было выявлено наличие двух механизмов действия: 1) антибиоза (образование стерильной зоны между антагонистом и микромицетом- патогеном) и 2) микопаразитизма.

В опытах *in vitro* между бактериями - антагонистами и представителями связанной с нематодами микобиоты были установлены следующие типы взаимодействий: 1) угнетение, выражающееся в образовании стерильной зоны между антагонистом (*Bacillus thuringiensis* 132 и *Bacillus polymyxa* A1) и патогеном (например, *Fusarium spp.*), 2) стимулирование развития, выражающееся в том, что метаболиты бактерий являлись факторами активации патогенной микобиоты и способствовали её развитию. Так экссудаты, выделяемые бактерией *Pseudomonas putida* (штамм 1-04) способствовали развитию патогенных грибов *Rhizoctonia solani*, распространению которых, в свою очередь, могут способствовать паразитические нематоды (таблица 7).

Таблица 7. Оценка биологической активности штаммов грибов и бактерий-антагонистов в опытах *in vitro*

Виды нематод и грибов (объект воздействия/токсичность)	Штаммы грибов и бактерий антагонистов	<i>Penicillium glaucum</i> SB	<i>Trichoderma viride</i> R/MC-10	<i>Bacillus subtilis</i> B1A2	<i>Bacillus polymyxa</i> A1	<i>Bacillus thuringiensis</i> 132	<i>Enterobacter agglomerans</i> 04	<i>Pseudomonas aureofaciens</i> A2	<i>Pseudomonas fluorescens</i> AR-33	<i>Pseudomonas putida</i> 1-04
<i>Нематоды р. Eucephalobus</i>		--	--	--	--	--	--	--	--	--
<i>Alternaria alternata</i>		--	M/A (8±1)	A (5±2)	--	A (4±2)	--	A (5±2)	--	--
<i>Botrytis cinerea</i>		--	M	--	+	+	--	--	+	--
<i>Fusarium oxysporum</i>		--	M/A (5±1)	A (5±2)	A (4±2)	A (6±2)	--	--	+	+
<i>F. sporotrichioides</i>		--	M	--	+	+	+	--	--	--
<i>Rhizoctonia solani</i>		--	M/A (6±1)	--	A (6±2)	+	+	--	+	--
<i>Mucor plumbeus</i>		--	M	--	A (5±2)	A (5±2)	A (9±2)	--	--	--

Примечание: М - микопаразитизм, А-антибиоз; значения в скобках- диаметр стерильной зоны в мм, -- -отсутствие действия, либо слабое действие, +-ингибирование развития микромицета-патогена при внесении на среду, уже занятую культурой бактерии (в данном случае образование стерильной зоны на 2КА/2КСА не отмечали)

Ряд биоагентов не оказывали прямого воздействия на патогенную биоту, а стимулировали развитие антагонистов, которые в свою очередь подавляли вредные организмы. Это явление мы наблюдали в чашках Петри, где бактериальный штамм *Pseudomonas aureofaciens* A2 стимулировал развитие сапротрофного гриба *Gliocladium roseum* (син.*Clonostachys rosea*), который в свою очередь является антагонистом и микопаразитом по отношению к патогенной микобиоте, в частности к *Fusarium oxysporum* ff.spp., которые в большинстве случаев присутствовали в живых тканях, повреждённых паразитическими нематодами. Для вида *Gliocladium roseum* (син.*Clonostachys rosea*) в литературе (Zhang et al., 2008) описаны энтомопатогенные свойства и паразитирование на нематодах. Однако выделенные нами изоляты данного представителя микобиоты в чашках Петри на 2 КСА влияния на развитие нематод практически не оказывали (опыт проведён на примере быстро размножающихся нематод - бактериофагов рода *Eucephalobus*).

После проведения опытов *in vitro* действие бактерий и грибов-антагонистов, продемонстрировавших активность, оценивали в *in vivo* – в полевых условиях на тест - растениях земляники садовой и смородины чёрной. Результаты опыта по оценке влияния штаммов грибов и бактерий-антагонистов *in vivo* на трофическую структуру фауны нематод ризосферы смородины чёрной представлены в таблице 8.

Таблица 8. Влияние штаммов грибов и бактерий-антагонистов *in vivo* на трофическую структуру фауны нематод ризосферы смородины чёрной (Лаб. участок ГНУ ВСТИСП в п.Измайлово, Московская область, 2008 г.)

Варианты (биоагенты)	Ф, %	МФ,%	Мик, %	Бакт.,%	Мног., %	Хищн., %
Контроль (без обработки)	6,3 *5,1	4,5	22,7	26,2	10,2	25 (7,9-как мн.)
<i>Trichoderma viride</i> R	*7,6	4,7	27,7	51,2	5,3	3,5 (1,7-как мн.)
<i>Trichoderma viride</i> MC-10	-	2,7	35,1	31,6	13,5	17,1 (15,3-как мн.)
<i>Bacillus thuringiensis</i> 132	*9,5	-	25,4	45,6	7,1	12,4 (7,3- как мн.)
<i>Enterobacter agglomerans</i> 04	*10,5	0,9	23,7	36,0	14,9	14,0 (8,7-как мн.)
<i>Pseudomonas putida</i> 1-04	*13,6	2,7	24,5	37,3	5,5	16,4 (8,2-как мн.)

Примечание: Ф-фитопаразиты,*- фитопаразиты неспецифического патогенного эффекта, МФ- микофитогельминты, Мик.-микогельминты, Бакт.-бактериофаги, Мног.-многоядные, Хищн.- хищники, как мн.- хищные нематоды- способные питаться как многоядные

В условиях полевых исследований после внесения ряда штаммов грибов и бактерий в ризосферу тест - растений отмечали отсутствие фитогельминтов специфического патогенного эффекта, т.е. биологическая эффективность составляла 100 %. Это указывает на возможность выработки биоагентами веществ, являющихся репеллентами нематод - фитопаразитов специфического патогенного эффекта, т.к. острая токсичность на представителей нематофауны при испытаниях данных биоагентов *in vitro* на 2КА и на 2КСА отсутствовала. Однако присутствие фитогельминтов неспецифического патогенного эффекта было на уровне контроля или в отдельных случаях выше контроля, что, по-видимому, объясняется характером их питания не внутри корня, а снаружи, к тому же часть из этих эктопаразитов могут питаться на мицелии грибов, как микогельминты. Помимо оценки действия на комплекс вредных организмов в полевых опытах *in vivo* (диаграмма 1) изучали действие данных биоагентов на вегетативную продуктивность тест - растений. Так, на смородине чёрной и землянике садовой значительный рост - стимулирующий эффект отмечали при внесении в ризосферу 1л водной суспензии содержащей конидии и мицелий гриба *Trichoderma viride* (штаммы R и MC-10) содержащий порядка 10^9 спор. Полученные результаты можно объяснить антагонистическим действием данных биоагентов в отношении ряда почвенных патогенов, высокой колонизирующей активностью исследуемых штаммов и, по-видимому, их способностью вырабатывать фитогормоны. В целом в результате проведенных исследований было установлено, что внесение в ризосферу смородины чёрной суспензии спор и мицелия культуры гриба *Trichoderma viride* (штамм R) оказывает не только репеллентное действие на фитопаразитических нематод специфического патогенного эффекта, способствует подавлению сопряжённой с ними микозной инфекции, обеспечивая стопроцентную биологическую эффективность (БЭ=100%), а также обладает рост стимулирующим действием, увеличивая прирост растений смородины черной на 21-22 %, а выход укоренённых розеток земляники в 1,5-2,0 раза через месяц после обработки тест-растений.

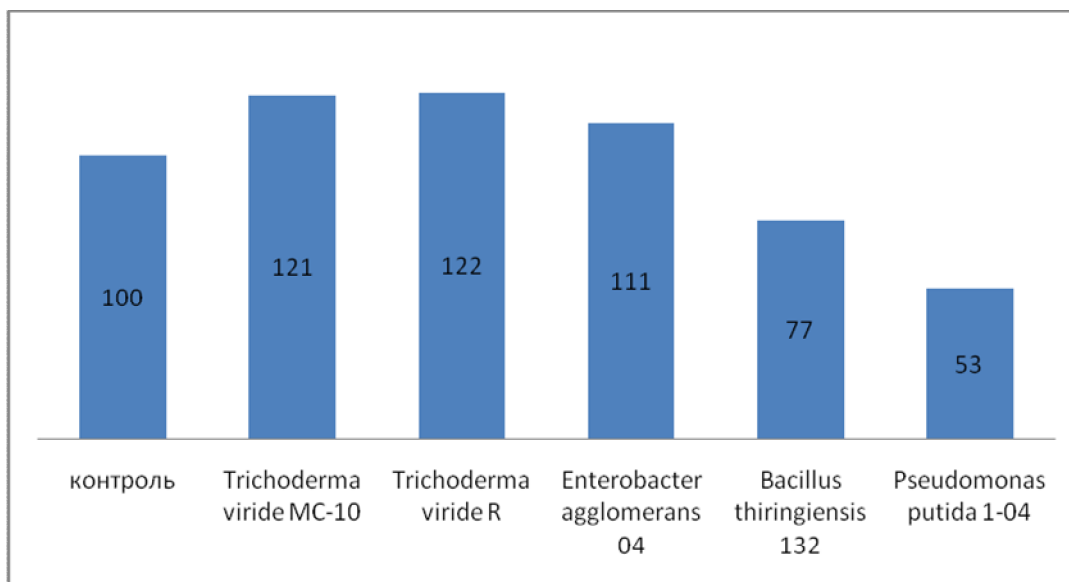


Диаграмма 1. Влияние внесения суспензий грибов и бактерий- антагонистов на прирост растений смородины чёрной (в % к контролю) (лабораторный участок ГНУ ВСТИСП, пос. Измайлово, Московской области), 2008 г.

При внесении некоторых биоагентов прирост растений был ниже контроля (без обработки, полив водой), что, по-видимому, можно объяснить негативным действием данных биоагентов на представителей полезной микобиоты, например, часто встречающихся в данной почве представителей родов *Gliocladium* или выработку ими метаболитов, токсичных для растений. При внесении грибов *Trichoderma viride* плотность популяции микогельминтов, в частности *Aphelenchus avenae* увеличивалась. Это свидетельствует о том, что испытанные нами штаммы гриба *T. viride* являются, по-видимому, для данного вида нематод источником питания. После однократного внесения в ризосферу растений земляники садовой водных суспензий биоагентов (порядка 10^9 клеток/1л под 1 растение)- наибольшую рост-стимуляцию (по количеству усоплетей и розеток) отмечали в вариантах с *Bacillus thuringiensis* 132, *B. polymyxa* A1 и *Trichoderma viride* (штамм R). При этом в ризосфере также отмечали значительное снижение фитопаразитических нематод специфического патогенного эффекта, что связано, по-видимому, с репеллентным действием метаболитов данных биоагентов, обитающих на корнях. Действие других биоагентов было на уровне контроля или ниже, что возможно связано как с антагонизмом в отношении полезных сапробиотических компонентов микобиоты (например, на представителей р. *Gliocladium*), так и токсичным действием на само растение.

ВЫВОДЫ

1. Впервые за последние 30 лет в условиях Центрального региона РФ проведено комплексное изучение ризосферной нематофауны и микобиоты насаждений земляники садовой и смородины чёрной. Впервые рассмотрены вопросы взаимодействия их компонентов в условиях Центрального региона РФ.

2. Фаунистический комплекс нематод ризосферы земляники садовой, представлен видами 47 родов, 23 семейств, 7 отрядов, двух классов. Среди представителей паразитической нематофауны преобладали представители родов: *Pratylenchus* (*P. pratensis*, *P. penetrans*, *P. crenatus*), *Rotylenchus* (*R. robustus*), *Helicotylenchus* (*H. digonicus*), *Longidorus* (*L. attenuatus*, *L. elongatus*), *Xiphinema* (*X. brevicollum*, *X. diversicaudatum*). При этом *R. robustus* описывается в ризосфере земляники садовой в условиях Центрального региона РФ впервые.

3. В ризосфере насаждений земляники садовой были выявлены как сапротрофные (*Penicillium*, *Gliocladium*, пор. *Mucorales*), так и фитопатогенные (*Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Verticillium*) виды грибов. При этом фитопатоконкомплекс был представлен фитопаразитическими нематодами видов *Helicotylenchus digonicus*, *Rotylenchus robustus*, *Pratylenchus crenatus*, *Trichodorus similis* и фитопатогенными грибами родов *Fusarium*, *Rhizoctonia* и *Alternaria*. Степень корреляции между распространением нематод данных видов и распространением грибов рода *Fusarium* (*F. oxysporum* ff. spp. и *F. solani* нередко достигала 1.

4. В ризосфере смородины чёрной фаунистический комплекс нематод был представлен видами 41 рода, 25 семейств, 7 отрядов, 2 классов. Среди представителей паразитической нематофауны преобладали виды *Paratylenchus nanus*, *Pratylenchus penetrans*, *P. pratensis*, *Xiphinema brevicollum*, *X. diversicaudatum*, *Trichodorus similis*, *T. primitivus*. При этом фитопатоконкомплекс был представлен фитопаразитическими нематодами: *Paratylenchus nanus*, *Pratylenchus penetrans*, *P. pratensis*, *Trichodorus* spp. и грибами рода *Fusarium*, главным образом - *F. oxysporum* ff.spp. и *F. sporotrichioides*. При этом синергетический патогенный эффект наблюдали в очагах *Pratylenchus* spp.

5. В результате изучения фауны нематод различных типов ценозов, включая естественный разнотравно-злаковый луговой ценоз, паровые поля под маточники и питомники ягодных культур, насаждения земляники садовой и смородины чёрной впервые в РФ для данных ценозов установлено как сходство, так и различия фаунистических комплексов. Выявлены виды паразитических нематод, которые могут переходить из естественного ценоза в насаждения земляники садовой и смородины чёрной, а также виды, являющиеся общими для обеих этих ягодных культур. Установлено, что корневые эндопаразитические нематоды *Pratylenchus pratensis*, *P. similis*, встречающиеся в виде отдельных очагов в условиях Центрального региона РФ в естественных разнотравно-злаковых ценозах способны переходить на растения земляники, при этом очаговый характер их распространения становится диффузным. Вид *Xiphinema brevicollum* обнаружен как в условиях естественного ценоза так и в посадках земляники и смородины. Впервые в РФ отмечено, что ряд видов, таких как *Rotylenchus robustus*, *Pratylenchus pratensis*, *P. penetrans* способен длительное время после возделывания культурных растений существовать в виде небольшого очага в условиях парового поля. После возвращения культурных растений на данные поля распространение этих нематод приобретает диффузный характер.

6. В результате изучения пространственного распространения компонентов фитопатоконкомплекса впервые в условиях РФ установлено, что почти все виды - представители фитопаразитической фауны нематод (*Helicotylenchus digonicus*, *Pratylenchus pratensis*, *Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus penetrans*, *Rotylenchus robustus*), отмеченные в паровых полях Московской области (ГНУ ВСТИСП пос. Михнево), были обнаружены в паровых полях под маточник плодово-ягодных культур в условиях юга РФ, в Чеченской республике. Обнаруженные в высокой численности виды паразитических нематод: *Trichodorus similis*, *Xiphinema brevicollum*, *X. pachtaicum*, *X. index* описываются для территории Чеченской республики впервые. Установлено также, что паровые поля, независимо от географической зоны, не освобождаются в течение одного года от опасных видов, как фитопаразитических нематод, так и патогенной микобиоты.

7. Впервые в РФ установлен высокий уровень сходства нематофауны ризосферы земляники садовой и смородины чёрной. Для этих культур выявлен 31 общий род. При этом коэффициент фаунистического сходства (КФС) составил 0,52. Выявлен общий для обеих культур комплекс корневых эндо- и экто- паразитических нематод, который включал представителей корневых ранящих нематод - эндопаразитов - *Pratylenchus penetrans*, *P. pratensis*, так и нематод - переносчиков опасных непо-, садва- и тобра- групп вирусов - *Trichodorus similis*, *T. primitivus*, *X. brevicollum*, *X. diversicaudatum*. Среди одних и тех же представителей фитопатогенной микобиоты ризосферы земляники и смородины

отмечали лишь *Fusarium oxysporum* ff. spp., остальные - являлись либо специфичными для какого-либо одного хозяина, либо вторичными, поражающими ослабленные растения.

8. Впервые в РФ установлено, что в ризосфере ягодных культур распространение представителей микобиоты при помощи нематод осуществляется как пассивно, так и активно. Пассивное распространение происходит в случае прилипания спор грибов к поверхности тела нематоды, подобным образом происходит распространение некоторых муконовых грибов, в частности *Mucor plumbeus* и грибов рода *Penicillium*. Активное распространение наблюдали в случае, когда вследствие поражения ранящими нематодами происходило выделение корневых экссудатов, служащих фактором активации представителей патогенной микобиоты, главным образом рода *Fusarium*.

9. Впервые в РФ проведена *in vitro* и *in vivo* оценка биологической и хозяйственной эффективности исследуемых штаммов грибов и бактерий- антагонистов, в результате чего были отобраны биоагенты полифункционального действия, обладающие как фунгицидным, так и нематодицидным действием на ризосферную микобиоту и фауну паразитических нематод смородины черной и земляники садовой. Установлено, что внесение в ризосферу смородины чёрной суспензии спор и мицелия культуры гриба *Trichoderma viride* (штаммы R и MC-10) оказывает, по-видимому, не только репеллентное действие на фитопаразитических нематод специфического патогенного эффекта, способствует подавлению сопряжённой с ними микозной инфекции (БЭ=100%), но и обладает рост- стимулирующим действием, увеличивая вегетативную продуктивность растений смородины чёрной на 21-22 %. При внесении биоагентов в ризосферу земляники аналогичное действие, помимо суспензии культуры *Trichoderma viride* (штамм R), отмечено для *Bacillus thuringiensis* 132 (рост-стимуляция до 50 %) и *Bacillus polymyxa* A1.

Список опубликованных печатных работ

* 1.Романенко Н.Д., Таболин С.Б. К вопросу изучения биологических средств защиты растений в борьбе с фитопаразитическими нематодами и другими патогенами на ягодных и других с.х. культурах // Плодоводство и ягодоводство. М.: ВСТИСП. 2008. Т. 18. С. 318-328.

2.Романенко Н.Д., Пономаренко В.А., Пономаренко А.В., Попов П. Н., Таболин С.Б. Сравнительный анализ эколого-трофического состава почвенной нематодофауны различных биоэкосистем Ростовской и Московской областей // Кн. Естественные и инвазийные процессы формирования биоразнообразия водных и наземных экосистем. Тез. докл. международной научной конференции. ОБН РАН - ЮНЦ РАН – Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН. Ростов-на Дону, 2007. С .259-260.

3.Романенко Н.Д., Суркова Т.А., Попов И.О., Таболин С.Б., Бугаева Е.Н. Оценка биологической эффективности ряда перспективных штаммов бактерий-антагонистов используемых для подавления численности наиболее патогенных видов нематод и грибов - возбудителей корневых гнилей в ризосфере растений картофеля // Кн.: Нематоды естественных и трансформированных экосистем. Сб. научных статей. Петрозаводск, 2007. С. 84.

4.Романенко Н.Д., Суркова Т.А., Попов И.О., Таболин С.Б., Бугаева Е.Н. Оценка хозяйственной эффективности ряда перспективных штаммов бактерий-антагонистов используемых для подавления численности наиболее патогенных видов нематод и грибов - возбудителей корневых гнилей в ризосфере растений картофеля. // Кн.: Нематоды естественных и трансформированных экосистем. Сб. научных статей. Петрозаводск, 2007. С. 84-85.

*5.Романенко Н.Д., В.Г. Заец, И.О. Попов, С.Б. Таболин, Е.Н. Бугаева. Перспективы использования бактерий – антагонистов против наиболее фитопатогенных нематод, вирусов и грибов // Агро-21. М.: 2008. № 1-3. С. 23-25.

Website: <http://www.agroxxi.ru/docs/01032008/01032008013.pdf>

6. Romanenko N.D., **Tabolin S.B.** Perspectives of using biological agents for plant protection in strawberry plantations. Book of abstracts of VI International Strawberry Symposium. 2008. ID: 1033.
7. Romanenko, N.D., T.A. Surkova, **S.B. Tabolin**, A.S. Titova, E.N. Bugaeva. Perspectives of using antagonistic bacteria for the suppression of the most harmful pathogens in modern phytosanitary situation // Proceedings of International Scientific Workshop “ Plant parasitic nematodes – Biodiversity, Study, Collections” , Golitsino, 2008. P.48-53.
8. Romanenko N.D., **Tabolin S.B.** On the problem of elaboration of ecologically and power saving technologies for the production of ecologically clean products of plant-growing // The Second Saint-Petersburg International Ecological Forum “Enviroment and Human Health” EcoForum-2008. 2008. P. 60-61.
9. *Романенко Н.Д., Заец В.Г., Козырева Н.И., Попов И.О. , **Таболин С.Б.** Биологические средства защиты растений в борьбе с фитопаразитическими нематодами, другими патогенами и перспективы их использования в XXI веке // Вестник Российского университета дружбы народов, сер. Агрономия и животноводство. 2008. № 2. С. 39-51.
10. Романенко Н.Д. , Банников М.В., Кокорева А.А., **Таболин С.Б.** Зависимость фауны нематод от степени увлажнения фитоценозов левобережья Приокской поймы. В кн.: Проблемы почвенной зоологии // Материалы XV Всероссийского совещания по почвенной зоологии. М.2008. С.76-77.
11. **Таболин С.Б.**, Романенко Н.Д., К вопросу разработки экологически безопасных энергосберегающих технологий производства экологически чистых продуктов питания. В кн.: Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Материалы конференции молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭРАН. 10-11 апреля 2008 г. Тов. Научн. изд. КМК. М. 2008. С. 375.
12. Романенко Н.Д., Зейналов А.С., Метлицкая К.В., Суркова Т.А., **Таболин С.Б.** К вопросу разработки экологически безопасных энергосберегающих технологий производства экологически чистых продуктов питания в области садоводства растениеводства. Биоразнообразие и экология паразитов наземных и водных ценозов. Материалы международной научной конференции, посвященной 130-летию со дня рождения акад. К.И. Скрябина (9-11 декабря 2008 года, г. Москва) М. 2008. С. 315-319.
13. Романенко Н.Д., Суркова Т.А., **Таболин С.Б.**, Титова А.С. (Симп_Нематод) Изучение комплекса наиболее опасных фитопатогенов (нематод, вирусов, грибов) на картофеле, овощных и ягодных культурах); Материалы 4-го Всероссийского съезда Паразитологического общества РАН «Паразитология в 21 веке: проблемы, методы, решения» 20-25 октября 2008 года. С.П. 2008. Т. 3. С. 91-92.
14. Романенко Н.Д., **Таболин С.Б.**, Е.Н.Бугаева. Перспективы использования бактерий-антагонистов против наиболее опасных фитопатогенных видов нематод вирусов и грибов на картофеле. Материалы 4-го Всероссийского съезда Паразитологического общества РАН «Паразитология в 21 веке: проблемы, методы, решения» 20-25 октября 2008 года С.П. 2008.Т.3. С.89-91.
- * 15. Романенко Н.Д., **Таболин С.Б.**, Толстогузова В.Г., Метлицкая К.В., Титова А.С. , Суркова Т.А., Оценка зараженности новых, перспективных и районированных сортов земляники садовой комплексом вредных организмов. Плодоводство и ягодоводство России. Сб. научных работ. Том XXII , ч.2, Издательский Дом МСП ГНУ ВСТИСП. М. 2009. С. 224-231.
- * 16. Романенко Н.Д. , Толстогузова В.Г., Метлицкая К.В., Титова А.С. , Суркова Т.А., **Таболин С.Б.** Разработка экологически безопасных методов защиты растений земляники садовой от комплекса вредных организмов. Плодоводство и ягодоводство России. Сб. научных работ. Том XXII , ч.2, Издательский Дом МСП ГНУ ВСТИСП. М. 2009. С. 232-238.
17. **Таболин С.Б.** Сравнительный анализ нематодофауны и микофлоры различных ценозов. Международная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных

«Ломоносов – 2009». (Москва, 2009, МГУ). Секция «Биология». Тез. Докл. М.2009. С. 134-135.

* - Публикации в периодических изданиях списка ВАК