

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

П.В. АЛБОРОВА, А.Х. КОЗЫРЕВ,
Л.М. БАЗАЕВА, Д.К. ХАНАЕВА

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Учебно-методическое пособие
для лабораторных занятий для студентов
агрономического факультета по направлению
подготовки 35.03.04 - Агрономия и
35.03.05 – Садоводство

Владикавказ, 2022

УДК 632.93
ББК 44

Составители: Алборова П.В., Козырев А.Х., Базаева Л.М., Ханаева Д.К.

Рецензент: А.А. Абаев, профессор кафедры земледелия, растениеводства, селекции и семеноводства, доктор сельскохозяйственных наук, ФГБОУ ВО ГГАУ.

Алборова П.В., Козырев А.Х., Базаева Л.М., Ханаева Д.К.
Биологические средства защиты растений: учебно-методическое пособие для лабораторных занятий /П.В. Алборова, А.Х. Козырев, Л.М. Базаева, Д.К. Ханаева /– Владикавказ: Издательство ФГБОУ ВО «Горский госагроуниверситет». 2022. – 68 с.

Учебно-методическое пособие по дисциплине «Биологические средства защиты растений» составлено в соответствии с действующей программой и содержит теоретический материал, для лабораторных занятий. Каждая тема снабжена вопросами для самоконтроля. Учебно-методическое пособие предназначено для студентов, обучающихся по направлениям подготовки 35.03.04 - Агрономия и 35.03.05 - Садоводство.

Данное издание подготовлено по дисциплине «Биологические средства защиты растений» в соответствии с Федеральным государственным стандартом высшего образования по направлениям подготовки 35.03.04 - Агрономия от 26 июля 2017 г. N 699, 35.03.05 - Садоводство 01 августа 2017 г. № 737.

Рекомендовано Центральным учебно-методическим советом ФГБОУ ВО Горский ГАУ в качестве учебно-методического пособия для лабораторных занятий по биологическим средствам защиты растений «30» апреля 2022 г. протокол № 7.

© Алборова П.В., Козырев А.Х., Базаева Л.М., Ханаева Д.К., 2022
© Издательство ФГБОУ ВО «Горский госагроуниверситет», 2022



ВВЕДЕНИЕ

Технология производства биопрепаратов, энтомофагов и биологически активных веществ – прогрессивная и наукоемкая отрасль современной биотехнологии. Проблему защиты растений от вредных организмов на современном этапе развития человечества можно решить созданием и применением биологических средств защиты растений (биопрепаратов, энтомофагов и биологически активных веществ), используя методы микробиологии, биохимии и технической энтомологии. Основу биологических средств защиты растений от вредителей, болезней и сорняков составляют существующие в природе микроорганизмы и насекомые, а также вещества, выделяемые ими. Их применение не наносит ущерба окружающей среде. Многолетний опыт применения биологических средств защиты растений, полученных при помощи современных технологий производства, свидетельствует не только о высокой экологической безопасности этих средств, но и экономической эффективности, приближающейся, а иногда и превышающей соответствующие показатели при использовании химических пестицидов.

Правильное и своевременное применение насекомых-энтомофагов, бактериальных, вирусных и грибных препаратов позволяет значительно сократить, а иногда и полностью отказаться от использования химических средств защиты растений.

В биологической защите растений используются биопрепараты, производство которых осуществляется биотехнологическими методами в условиях крупных и мелкотоннажных производств. Так, препараты против вредителей сельскохозяйственных (овощных, плодовых, лесных) культур создаются на основе энтомопатогенов, являющихся элементами природного биоценоза. В зависимости от природы их разделяют на вирусные, микроспоридиальные, бактериальные, грибные и др.

Бакалавр сельского хозяйства обязан хорошо ориентироваться в многообразии биологических средств защиты растений и технологиях их получения.

Знать: методы получения и применения биопрепаратов для защиты растений, а также регуляторов роста растений, феромонов насекомых и их аналогов, энтомофагов.

Уметь: составлять технологические схемы получения биопрепаратов и массового производства энтомофагов, клещей и БАВ. Следует ясно представлять себе последствия принимаемого решения. Для осознанного выбора используемого средства биологической защиты растений необходимо четкое знание его основы и современных технологий производства. Масштабы использования данных средств зависят от защищаемой культуры, видового состава вредителей, возбудителей болезней и сорняков, условий окружающей среды. Расширение сферы применения средств биологической защиты растений жизненно необходимо, что, безусловно, требует знания современных технологий их получения.

Цель – формирование знаний и умений по производству и применению биологических средств защиты растений с использованием методов микробиологии и технической энтомологии, а также формирование у бакалавров теоретических знаний, практических умений и компетенций по биологической защите растений от вредных организмов на сельскохозяйственных объектах.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 1.

Микробные биопрепараты для защиты растений (грибные, бактериальные, вирусные)

Цель: ознакомиться с многообразием биологических средств защиты растений и ответить на вопросы

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», микроскопы, камеры Горяева, пипетки, спирт, образцы биопрепаратов.

Потенциальная опасность агрохимикатов для здоровья человека и их воздействие на среду его обитания вызывают необходимость научного поиска и разработки новых подходов к организации защитных мероприятий в сельском хозяйстве. В связи с накоплением фактов негативного воздействия на природу и человека в конце XX века возникает теория и практика биологического или альтернативного земледелия. Одним из важнейших методов этого направления является использование микробиологических земледобрильных препаратов и средств защиты растений.

Биологическая защита растений – это направленное применение живых организмов и вырабатываемых ими биологически активных веществ (БАВ) для снижения ущерба, наносимого культурным растениям вредителями и болезнями. Это направление в защите растений возникло много лет назад после бума химизации.

По принципу действия выделяют следующие группы микробных препаратов:

1) Препараты цидного действия – это возбудители болезней животных, растений-сорняков. Чаще всего действующим началом в этих препаратах являются паразиты первого порядка или хищники (примеры: препараты Боверин, микогербицид, бактороденцид, триходермин).

2) Препараты микроорганизмов-антагонистов, ограничивающих распространение вредителей и болезней. Например, бактерии рода *Pseudomonas* быстро усваивают ионы железа, превращая их в *Сидерофоры*, недоступные для других микроорганизмов (препараты Ризоплан, псевдобактерин).

3) Препараты гиперпаразитов или паразитов II-го порядка: например, пикнидиальный гриб *Cicinobolus cesati* паразитирует на возбудителях мучнистой росы, бактерии рода *Pseudomonas* – на фузариозных грибах. Пентафаг – препарат пяти бактериофагов – гиперпаразитов фитопатогенных бактерий.

4) Препараты антибиотиков, токсикантов и антифидантов – продукты метаболизма микроорганизмов, ингибирующие жизнедеятельность других микробов, обладающие нейротоксическим или репеллентным действием. Примеры: агравертин, фитоверм, трихотецин, фитофлавин и др.

Классификация препаратов по действующему началу:

По действующему началу, микробные биопестициды, делят на вирусные, бактериальные, грибковые, актиномицетные, а также препараты антибиотиков, антифидантов и токсикантов. В настоящее время во всем мире выпускается около 70 видов микробиологических средств защиты растений. Из них почти 90% разработаны на основе спорообразующей бактерии *Bacillus Thuringiensis*, которая может образовывать белковые кристаллы, обладающие высокой инсектицидной активностью.

Действующим началом препаратов на вирусной основе являются неклеточные организмы - вирусы и генетические паразиты бактерий - Бактериофаги, которые используются в борьбе с Бактериозами (табл. 1). Препарат «Пентафаг» (пять бактериофагов) разработан против фитопатогена *Pseudomonas Syringae* (возбудитель пятнистости огурца, томатов, рака плодовых и др.). В настоящее время производство приостановлено в связи с невостребованностью.

В Западной Европе в последнее время широко применяется вакцинация растений слабопатогенными штаммами вирусов (преинокуляция) с целью развития индуцированного (вызванного) иммунитета.

В России получен вакцинный штамм «ВТМ-69» для обработки томатов, используемый как в открытом, так и в закрытом грунте. Опрыскиваются семена (проростки). Вакцина сдерживает развитие различных пятнистостей вирусного происхождения у томатов. Прибавка урожая в вакцинированных культурах составляет около 23%.

«Вирог-43» – Вакцинный препарат против зеленой крапчатой мозаики огурца, использование препарата приводит к развитию неспецифического иммунитета.

Таблица 1 – Вирусные препараты

Название препарата	Действующее начало	Механизм действия	Применение против (спектр действия)
ПЕНТАФАГ	<i>Пять штаммов бактериофагов</i>	Паразитизм	<i>Pseudomonas Syringae</i> - возбудителя пятнистости огурца, томатов
ВТМ-V-69	<i>Вирус табачной мозаики</i>	Индукция иммунитета	Вакцина сдерживает развитие различных пятнистостей у томатов
ВИРОГ-43	<i>ВЗКМО</i>	Индукция иммунитета	Зеленой крапчатой мозаики огурца

Бактериальные препараты создаются чаще всего на основе бактерий из родов *Pseudomonas* и *Bacillus*.

В них проявляются различные формы отрицательных биологических связей. Использование этих препаратов уместно для борьбы с грибными заболеваниями, бактериозами и фитофагами – насекомыми, грызунами (табл. 2).

Антифидантное действие (снижение интенсивности питания) можно считать одной из форм антибиоза. Бактерии вида *Bacillus Thuringiensis* образуют белковые кристаллы, которые, попадая в кишечник личинок колорадского жука и других насекомых, вызывают остановку пищеварения. Личинки перестают питаться и вскоре погибают от истощения.

Таблица 2 – Бактериальные препараты

Название препарата	Действующее начало	Механизм действия	Применение против (спектр действия)
1	2	3	4
На основе бактерий р. <i>Pseudomonas</i>			
Псевдобактерин-2	<i>Pseudomonas Aureofaciens</i>	Антибиоз	Против грибных болезней и бактериозов томатов, огурца

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
Ризоплан (Планриз)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Антагонизм (образуют сидерофоры)	Черной ножки и сосудистого бактериоза капусты
На основе бактерий р. <i>Bacillus</i>			
Бактероденцид	<i>Salmonella enterindis</i>	Паразитизм	Серой полевки, серого хомяка, курганской мыши
БСП	<i>Bacillus polymyxa</i> <i>Bac. subtilis</i>	Антибиоз и антагонизм	Фунгицид широкого спектра действия
Битоксибациллин	<i>Bacillus Thuringiensis</i>	Антифидантное действие	Свекловичного долгоносика, колорадского жука
Бактофит	<i>BacillusSubtilis</i>	Антибиоз	Фитопатогенных грибов родов: <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>

В состав инсектицидов и фунгицидов на основе грибов наиболее часто входят микроорганизмы со способностью к паразитизму и гиперпаразитизму (табл. 3).

Таблица 3 – Препараты на основе грибов

Название препарата	Действующее начало	Механизм действия	Применение против (спектр действия)
Боверин	<i>Beauveria Bassiana</i>	Паразитизм	Медведки, щелкунов, слизней
Биокон	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	Паразитизм	Галловых нематод р. <i>Meloidogyne</i>
Вертициллин	<i>Verticillium Lecanii</i>	Паразитизм	Личинок и имаго белокрылки
Микогербицид	<i>Puccinis punctiformis</i>	Паразитизм	Проростков бодяка <i>Sonchus arvensis</i>
Триходермин	<i>Trichoderma lignorum</i>	Конкурентный антагонизм. Антибиоз Гиперпаразитизм	Фитопатогенных грибов родов: <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i> , <i>Pythium</i> , <i>Phytophthora</i>
Ампеломицин	<i>Ampelomyces quisqualis</i>	Гиперпаразитизм	<i>Erysiphe</i> sp., <i>Sphaerotheca</i> sp.

Контрольные вопросы

1. По принципу действия какие группы препаратов выделяют?
2. Микробные биопестициды по действующему началу на какие группы делятся?
3. Что такое вакцинация растений и с какой целью она проводится?
4. На основе каких бактерий создаются бактериальные препараты, назовите какие используются в России?
5. Препараты на основе актиномицетов, опишите механизм действия на насекомых.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 2.

Технологии производства бактериальных препаратов.

Цель занятия: ознакомиться с особенностями при производстве бактериальных биопрепаратов для защиты растений, а также изучить основные требования при производстве биопрепаратов.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений», микроскопы, камеры Горяева, пипетки, спирт, суспензия биопрепарата (бактериального).

Производство микробиологических препаратов осуществляется в рамках биотехнологического процесса. Активным началом в биотехнологических процессах является биологический агент. Самым традиционным биологическим агентом является микробная клетка. Особенности биопрепаратов на основе живых организмов связаны с природой организма – продуцента. Основой бактериальных энтомопатогенных препаратов являются бактерии *Bacillus thuringiensis* и *B. Popillae*.

Бактерии *Bac. thuringiensis* антагонистичны к 130 видам насекомых. Наиболее распространенные препараты на основе различных вариаций *Bac. thuringiensis*: энтобактерин, инсектин, алестин, экзотоксин, токсобактерин, дендробациллин, битоксибациллин. Наибольший

эффект достигается при применении препаратов этой группы против листогрызущих вредителей. Бактерии *Bac. thuringiensis* не только разрушают насекомое, попадая внутрь, но и продуцируют ряд токсичных продуктов. Среди этих токсичных продуктов выделяют 4 компонента:

- α -экзотоксин, или фосфолипаза С, - продукт растущих клеток бактерий. Токсическое действие фермента связывают с индуцируемым им распадом незаменимых фосфолипидов в ткани насекомого, что приводит к гибели последнего.

- β -экзотоксин - накапливается в культуральной жидкости при росте клеток. Считают, что молекула β -токсина состоит из нуклеотида, связанного через рибозу, и глюкозу с аллослизевой кислотой. Его действие, видимо, обусловлено ингибированием нуклеотидазы и ДНК-зависимой РНК-полимеразы, связанных с АТФ, что приводит к прекращению синтеза РНК. По сравнению с другими токсинами действует медленнее, в основном при переходе от одного цикла развития к другому. По наблюдениям, β -экзотоксин - мутаген, поражающий генетический аппарат особей.

- γ -экзотоксин - малоизученный компонент, неидентифицированный фермент (или группа ферментов).

- δ -эндотоксин - параспоральный кристаллический эндотоксин. Образуется в процессе споруляции бактерии в противоположной от формирующейся споры части бактерии. На завершающей стадии спорообразования токсин приобретает форму 8-гранного кристалла. Кристаллы состоят из белка, аминокислотный состав которого близок для различных штаммов. Доказано, что кристаллический белок в кишечнике восприимчивых насекомых распадается на молекулы протоксина. Протоксин под действием протеиназ распадается на токсические фрагменты. Различие в восприимчивости некоторых видов насекомых к действию кристалла, по-видимому, связано с присутствием специальных кишечных протеаз, осуществляющих гидролиз кристаллов *in vivo*. Такими протеазами обладают не все насекомые, отсюда и избирательность действия δ -токсина. Чтобы насекомое погибло, кристаллы должны попасть в его организм. После поглощения кристаллов гусеницы перестают питаться. Первичным местом действия δ -токсина является средний отдел кишечника.

В зависимости от реакции на кристаллы насекомые делятся на три группы:

- характерен общий паралич;
- паралич среднего отдела кишечника;
- реакция на препарат в целом: гибель в результате прорастания спор и последующего размножения бактерий.

Препаратов для подавления болезней растений – бактерии рода *Pseudomonas* и *Bacillus subtilis*. Для получения бактериальных препаратов микроорганизмы культивируют на питательных средах (ПС) глубинным способом. Для осуществления процесса производства биологического препарата необходима технологическая карта. При проектировании технологических карт производства биологических агентов для защиты растений от вредных организмов требуется знание схемы производства и необходимого для этого оборудования, сырья, инструментов, а также техники безопасности.

Требования к промышленным штаммам энтомопатогенных бактерий: принадлежность штамма к определенному серотипу, высокая вирулентность и продуктивность на промышленных средах, устойчивость к комплексу фагов и т.д. Технология производства включает все стадии, типичные для любого биотехнологического производства. Температуру культивирования на всех стадиях поддерживают постоянной (28-30°C), продолжительность ферментации составляет 35-40 часов. Используют дрожже-полисахаридную среду, содержащую в процентах: кормовые дрожжи - 2-3; кукурузную муку - 1-1,5; кашалотовый жир - 1. Перед началом культивирования рН составляет около 6,3, к концу ферментации - повышается до 8,0–8,5, что может привести к разрушению кристаллов на более мелкие фрагменты и затруднить их выделение. Чтобы предотвратить это, культуральную жидкость перед переработкой подкисляют до 6,0–6,2. Культивирование заканчивают при степени споруляции 90-95% и титре спор не менее 10^9 в 1 мл. После сепарации культуральной жидкости получают пасту влажностью 85% с выходом около 100 кг в 1 кубометре культуральной жидкости и титром порядка $20 \cdot 10^9$ спор в 1 грамме.

Конечный продукт - смачивающий порошок или стабилизированная паста. Первый получают путем высушивания увлажненной пасты на распылительной сушке. Готовый препарат фасуют по 20 кг в

четырёхслойные крафт-мешки с полиэтиленовым вкладышем. Вторую - внесением в пату КМЦ. При смешении молекулы КМЦ сорбируют белковые кристаллы и споры, заряжая их отрицательно, что способствует равномерному распределению активного начала по всему объёму и увеличению срока хранения. Готовый препарат - вязкая жидкость кремового или светло-серого цвета, без запаха, не замерзающую при хранении. Препарат предназначен для борьбы с садово-огородными вредителями, эффективен против 60 видов насекомых. Применяют путем опрыскивания растений водной эмульсией в период активного роста вредителя. Основная масса вредителей погибает в течение 2-10 дней. На 1 га расходуют: для овощных культур 1-3 кг, садовых - 3-5 кг.

Биологические препараты, получаемые методами биотехнологии, должны отвечать определенным требованиям, т. е. быть стандартизованы. Стандартизацию и оценку качества биопрепаратов проводят по количеству действующего начала (споры, включения, клетки, метаболиты) в единице массы или объема и по биологической активности.

Основные термины:

Биолаборатория – подразделение, в составе которого имеются здания или помещения, различное оборудование, приборы, инструментарий для производства биопрепаратов.

Биологическая активность препарата – ответная реакция тест-объекта на действие биопрепарата, выраженная в единицах активности.

Биологический агент (агент биологической защиты)- полезный организм, используемый в биологической защите растений от вредных видов, основа биопрепаратов.

Параспоральные белковые включения – кристаллы эндотоксина, продуцируемые бактериальной клеткой одновременно с образованием спор.

Препаративная форма – готовый препарат, в состав которого входят действующее начало, и вспомогательные вещества (наполнители, прилипатели, и пр.).

Титр – количество жизнеспособных спор (клеток) в единице мас-

сы или объема (1 мл или 1 г) препарата, один из показателей качества биопрепарата.

Энтомопатоген – организм, вызывающий заболевания насекомых.

Контрольные вопросы

1. Требования к промышленным штаммам энтомопатогенных бактерий
2. Укажите особенности при получении бактериальных препаратов для защиты растений.
3. Дайте характеристику глубинному способу получения биопрепарата.
4. Какие питательные среды используются для культивирования бактериальных препаратов?
5. Бактерии *Bac. thuringiensis* антагонистичны к скольким видам насекомых?

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3.

Определение эффективности бактериальных препаратов в лабораторных условиях (ЛК₅₀).

Цель занятия: определить активность бактериальных препаратов - дендробациллина, энтобактерина, битоксибациллина.

Оборудование и материалы: микроскопы МБР-1, камеры Горяева, колбы на 1000 мл, пробирки в штативах, чашки Петри, мерные пипетки на 10 и 1 мл, стеклянные палочки, посевные иглы, спиртовки, предметные и покровные стекла. Объекты изучения: образцы сухих порошков боверина, энтобактерина, дендробациллина, битоксибациллина, тестобъекты: гусеницы капустной белянки, капустной моли или листогрызущих гусениц плодовых и ягодных культур.

Пояснения к работе: Эффективность препарата определяют в лабораторных и полевых условиях. Эту задачу можно усложнить, взяв для оценки препараты с разным сроком или условиями хранения или различные товарные формы препарата (сухой порошок, паста и т. д.). Данную работу также можно выполнить в период летней учебной практики.

Определение активности препарата в лабораторных усло-

виях. Для сравнительной оценки эффективности испытываемых препаратов определяют ЛК₅₀, т. е. концентрацию препарата, вызывающую 50%-ную смертность подопытных насекомых. В качестве тест объекта используют гусениц капустной белянки, капустной моли или листогрызущих гусениц плодовых или ягодных культур, имеющихся в достаточном количестве на участках, где в последующем можно провести испытания препарата в полевых условиях. При этом подбирают гусениц одного возраста.

Для оценки готовят серию концентраций препарата, при более высоких значениях которых обеспечивается 100%-ная смертность насекомых, например, 5; 3; 1; 0,5; 0,1; 0,01 и 0,001% по готовому препарату промышленного изготовления. На кружочек листовой пластинки площадью 1 см² наносят по 0,01 мл суспензии разных концентраций препарата. Кружочек с одной гусеницей помещают в чашку Петри или пробирку для индивидуального содержания. Работу планируют так, чтобы на подгруппу студентов приходилось не менее 30 чашек или пробирок каждой концентрации анализируемого препарата, т. е. по 10 чашек в трех повторностях.

По мере подсыхания корм для насекомых меняют на свежий, но без дополнительной обработки биопрепаратом. По мере гибели гусениц выборочно проводят микробиологический анализ в опыте и в контроле, в целях установления причин гибели и в том числе от наличия латентной инфекции других патогенных микроорганизмов – вирусов, микроспоридий и пр. Через 5...6 дней после обработки опыт заканчивают и определяют средний процент гибели насекомых для каждой концентрации препарата с поправкой на смертность в контроле. (С) по формуле:

$$C = \frac{A - B}{100 - B} \cdot 100$$

где *A* – количество погибших гусениц в контроле; *B* – количество погибших гусениц в опыте.

Полученные показатели обрабатывают с помощью – пробит-анализа для определения ЛК₅₀.

Определение эффективности препарата в полевых условиях. В этом опыте число вариантов зависит от числа изучаемых препаратов или его препаративных форм, но в схему опыта обязательно

вводят контроль (опрыскивание водой) и эталон. В качестве эталона берут рекомендуемый для этой культуры и вредителя инсектицид с соответствующей нормой расхода. Суспензию бактериального препарата готовят не ранее чем за 2 ч до начала обработки. Опрыскивание проводят рано утром или вечером при теплой и сухой погоде после перехода гусениц вредителя к открытому питанию. Учет численности гусениц проводят через 3; 5; 10 и 15 дней после обработки по методике, предусмотренной для данной культуры (количество живых насекомых на 1 м' или на 1 кочан капусты, на 0,5 м ветви и т. д.).

Процент смертности насекомых (С) определяют с поправкой на контроль и на миграцию с момента учета до и после опрыскивания по формуле:

$$C = 100 \left(1 - \frac{B_2 \Gamma_1}{B_1 \Gamma_2} \right)$$

где *B*₁ – количество живых особей в опыте до опрыскивания; *B*₂ – то же, после опрыскивания; *Γ*₁ – количество живых особей в контроле до опрыскивания; *Γ*₂ – то же, после опрыскивания.

По окончании работы проводят анализ эффективности препаратов или их препаративных форм, полученных студентами всей группы в целом, составляют индивидуальные отчеты и сдают преподавателю для проверки.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 4.

Особенности получения энтомопатогенных препаратов на основе нематод и микроспоридий для защиты растений

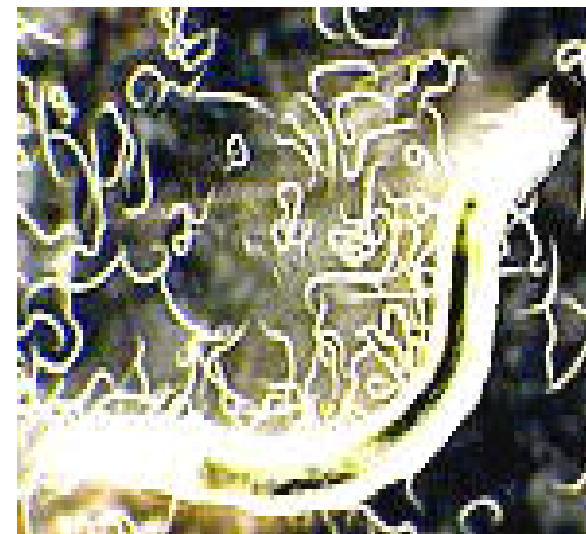
Цель занятия: ознакомиться с особенностями при производстве бактериальных биопрепаратов для защиты растений, а также освоить различные методы определения биологической активности и титра биопрепаратов.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений».

Препараты на основе микроспоридий и энтомопатогенные нематоды по особенностям получения близки к производству вирусных препаратов. Производятся на основе представителей нематод из семейства Steinernematidae. Энтомопатогенные нематоды способны заражать свыше тысячи видов вредителей сельскохозяйственных и декоративных культур из различных семейств (Agromyzidae, Sciaridae, Curculionidae, Scarabaeidae, Scolytidae, Culicidae, Braconidae, Arthropoda, Diptera, Galleriidae, Lasiocampidae, Noctuidae, Notodontidae, Pyralidae, Sphingidae, Tortricidae, Pieridae, Blattellidae и др.), включая карантинные виды, поражая все стадии развития, кроме яйца. Практическое применение в борьбе с вредителями возможно на широком спектре культур (плодово-ягодные, виноград, цветочно-декоративные, овощные культуры, грибы) как в условиях открытого грунта, так и в условиях конструктивных сооружений. Устойчивость ко многим современным синтетическим химическим препаратам и отсутствие патогенного действия на растения, опылителей (пчел, шмелей), дождевых червей, энтомофагов и акарифагов позволяет использовать паразитических нематод в программах управления численностью фитофагов. Препараты, содержащие энтомопатогенные нематоды, можно применять совместно с химическими и биологическими средствами защиты растений. В настоящее время в США, Канаде и многих европейских странах энтомопатогенные нематоды массово используются в интегрированных системах защиты растений.



Технология применения. Непосредственное применение энтомопатогенных нематод осуществляется «наводняющим» методом, когда происходит активное выселение агентов, с целью получения массового и равномерного распространения для обеспечения быстрого и надежного уровня контроля фитофагов.



Наиболее простой способ применения энтомопатогенных нематод состоит в использовании тех же самых типов оборудования, которые применяются для опрыскивания химическими препаратами. Таким образом, нематоды могут вноситься на необходимых участках посредством наиболее распространенного оборудования, такого как ранцевые и мобильные опрыскиватели, туманораспылители и др. Инфицирующие нематоды могут выдерживать давление до 1068 кПа и проходить сквозь обычные форсунки опрыскивателей с отверстием до 100 мкм в диаметре, однако мембраны в форсунках должны быть предварительно удалены, чтобы минимизировать повреждение нематод. Нематоды также могут применяться через систему орошения, включающую в себя капельный полив, микрофорсунки, дождеватели и орошение по бороздам.

Препараты на основе микроспоридий – родов *Variomorpha*, *Nosema* и других. Так, для получения препаратов на основе микро-

споридий их культивируют только на живых насекомых. Массовое производство препаратов на основе энтомопатогенных нематод в комплексе с патогенными бактериями осуществляется в настоящее время на личинках насекомых и питательных средах (ПС). Наиболее часто хозяином для производства нематод являются гусеницы пчелиной огневки. Препаративная форма, например, пропитанная суспензией нематод поролоновая губка. Возможно культивирование энтомопатогенных нематод совместно с их бактериальным симбионтом на жидких ПС, а также с использованием инертных носителей.

Известно, что микроспоридии поражают более 200 видов насекомых и являются внутриклеточными облигатными паразитами. Вызывают длительные хронические заболевания, с частыми эпизоотиями, как правило, оканчивающимися гибелью насекомых. Однако, производство биопрепаратов на их основе практически не развито, так как микроспоридии могут развиваться только в живых организмах. Таким образом, из-за ряда ограничений, связанных с биологией микроспоридий, производство биопрепаратов на их основе достаточно трудоемко и дорого.

Основные термины:

Микроспоридии – облигатные паразиты животных (в том числе насекомых), относящиеся к царству простейших.

Нематоды – круглые черви, паразитирующие на других животных или ведущие сапрофитный образ жизни.

Симбиоз – совместное существование двух или нескольких разных организмов, приносящих им взаимную выгоду.

Контрольные вопросы

1. Каким методом целесообразно получать препараты на основе энтомопатогенных нематод и почему?
2. Назовите особенности каждого из способов производства препаратов на основе энтомопатогенных нематод, укажите отличия.
3. Укажите современные препаративные формы нематодно-бактериальных препаратов.
4. Назовите основные трудности при наработке микроспоридий.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 5.

Бактериальные препараты против грызунов

Цель занятия: изучить технологию применения родентопатогенных бактериальных препаратов, ответить на вопросы.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», микроскопы, камеры Горяева, пипетки, спирт, суспензия биопрепарата (бактериального).

Среди естественных регуляторов численности мышевидных грызунов встречаются возбудители бактериальных болезней. Некоторые из возбудителей инфекционных заболеваний грызунов патогенны только для этих теплокровных и не действуют на полезную фауну. В 1893 г. С. С. Мережковский выделил из больных сусликов бактерию, которая оказалась патогенной для мышей, полевок и серого хомячка. В 1897 г. Б. Л. Исаченко обнаружил сходную бактерию в трупах крыс. В 60-е годы XX в. такие бактерии были выделены в Сибири из погибших водяных полевок (Полтев, Гриценко, 1961). Эти бактерии относятся к энтеробактериям, видам рода *Salmonella*.

Salmonella enteritidis subsp. *issatschenko* или subsp. *Mereschkovski* представляют собой короткие (1...2 мкм) грамотрицательные палочки с закругленными краями, неспорообразующие.

Бактерии являются факультативными аэробами, с оптимальной температурой роста 37 °С. Из 33 видов грызунов 14 высоковосприимчивы к *S. enteritidis*. В их число входят домовая мышь, серая и водяная полевки.

Во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии разработаны две формы препарата бактороденцида на основе *S. enteritidis*.

Бактороденцид аминокостный. Сухая аминокостная форма представляет бактерии, размноженные на костной муке с добавлением аминокислот. В 1 г содержится не менее 0,1 млрд. жизнеспособных бактерий, располагающихся внутри и на поверхности каждой гранулы. Нормы расхода аминокостной формы бактороденцида: на 1 га – 200...300 г; на 1 м³ стогов и скирд – 0,5... 1 г; на 100 м² площади построек – 5... 10 г для мышей и полевок, 20...50 г для крыс.

Для борьбы с полевками, домовый и лесной мышами, черной и серой крысами раскладывают приманки, содержащие 20 % препарата. Приманку готовят из доброкачественного зерна пшеницы. Для борьбы с водяной крысой используют приманки из мелко нарезанного картофеля, на 100 г которого берут 36 г взвеси препарата.

Бактороденцид зерновой. Действующее начало то же, титр – 1 млрд. спор в 1 г. Препарат готовят путем размножения бактерий в зерне. В результате каждое зерно представляет собой гранулу, содержащую внутри бактерии. Поэтому само зерно является и защитной средой для бактерий, и приманкой. Применяется без дополнительного приманочного продукта против мышей и полевок на полях, лугах, пастбищах, в лесополосах, стогах и скирдах. Нормы расхода: на 1 га – 1...2 кг; на 1 м³ стога и скирд – 5...30 г; на 100 м² площади теплиц, парников, складов – 100 г. В полях, лугах и садах разрешена однократная обработка бактороденцидом, на остальных объектах – двукратная. Для летального эффекта грызуну достаточно съесть 1...2 зерна.

Как зерновую, так и аминокостную форму бактороденцида можно использовать в любое время года (до температуры – 25°C). Чаще всего препарат раскладывают в норы грызунов по их тропам. На территории теплиц и парников норы грызунов выявляют ранней весной, особое внимание обращают на срубы парниковых рам и места хранения соломенных матов, где грызуны могут скапливаться зимой.

Родентопатогенные бактерии могут вызвать эпизоотию среди высоковосприимчивых видов грызунов. Инфекция может передаваться от больных особей здоровым несколькими путями, наиболее распространенный из которых – каннибализм. Погибшие грызуны являются резервуаром массы бактерий Исаченко, поэтому, поедая их, здоровые особи заражаются. Так происходит горизонтальная передача инфекции. Для создания острой эпизоотии необходимо наличие высоковирулентного возбудителя, высокая плотность хозяина и сохранение жизнеспособности бактерий в среде.

После поедания препарата бактерии попадают в желудок, кишечник, затем проникают в кровь, вызывая септицемию. Патологическая картина аналогична наблюдаемой при других брюшнотифозных

инфекциях теплокровных. Сначала активность грызунов повышается, но на 3...5-е сутки они становятся вялыми, мало едят, шерсть взъерошена, глаза слезятся. Обычно болезнь длится до 1 недели. При производстве бактороденцида особое внимание следует уделять контролю качества препарата. Недооценка этого требования может привести к непредвиденным последствиям вплоть до замены родентопатогенных бактерий другими видами. Используемые штаммы бактерий должны строго соответствовать характеристикам, указанным в паспорте. Штамм следует получать из коллекции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. Коллекционные штаммы используют не более 3 мес.

Результаты исследований последних лет на культурах клеток и тканей животных и человека позволили заключить, что бактерии Исаченко не опасны для человека. Патогенность этих бактерий, несмотря на принадлежность к группе сальмонелл, строго селективно. Они не только непатогенные для человека и домашних животных, но и избирательно патогенны для грызунов. Такая избирательность позволяет использовать их достаточно широко. Но для соблюдения высокой степени осторожности не рекомендуется применять их в детских и лечебных учреждениях, на предприятиях общественного питания, птицефабриках.

Контрольные вопросы

1. Кто из русских ученых выделил из больных сусликов бактерию, патогенную для мышей, полевок и серого хомячка?
2. К какому роду относятся эти патогенные энтеробактерии?
3. Чем отличается бактороденцид аминокислотный от бактороденцида зернового?
4. Как используются эти препараты?
5. Что необходимо для того, чтобы данные препараты вызывали эпизоотию?
6. Как действуют бактерии после попадания в желудок грызунов?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 6.

Методика определения эффективности грибных препаратов для защиты растений

Цель: ознакомиться с особенностями бактериальных биопрепаратов для защиты растений и овладеть навыками определения эффективности биопрепаратов на примере боверина.

Учебные материалы и оборудование учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология». Микроскопы, камеры Горяева, пипетки, спирт, суспензия биопрепарата (грибного).

Грибные энтомопатогенные препараты производятся на основе представителей отделов *Zygomycota* и *Deuteromycota*, а препараты для подавления болезней растений – на основе микроорганизмов – антагонистов возбудителей болезней растений (например, грибы рода *Trichoderma*) и микроорганизмов – гиперпаразитов фитопатогенов (например, грибы рода *Ampelomyces*). Препараты на основе грибов, применяемые для снижения численности сорняков, называют микогербицидами. Так, для получения грибных препаратов микроорганизмы культивируют на питательных средах (ПС) поверхностным, глубинным и глубинно – поверхностным способом. Грибные препараты, должны отвечать определенным требованиям, т. е. быть стандартизованы. Стандартизацию и оценку качества биопрепаратов проводят по количеству действующего начала (споры, включения, клетки, метаболиты) в единице массы или объема и по биологической активности.

Основные термины:

Антагонизм – форма взаимоотношений между организмами, при которой один вид подавляет жизнедеятельность другого или убивает.

Гиперпаразитизм – один из видов паразитизма, характеризующейся паразитированием одного паразита (гиперпаразит) в другом. В этом случае гиперпаразит называется паразитом 2-го порядка, а его хозяин – первого.

Микозы – заболевания животных (насекомых, грызунов, клещей), вызываемые грибами. Штамм – генетически однородная культура

микроорганизма, наследственная однородность которой поддерживается отбором по специфическим признакам.

Определение жизнеспособности спор боверина

Хранение микробиологических препаратов ограничено жесткими сроками и условиями, предусмотренными Государственным стандартом или соответствующими техническими условиями. Это относится в первую очередь к грибным препаратам. Поэтому незадолго до их применения целесообразно проверить жизнеспособность спор.

Задание: Берут 1 г сухого порошка боверина и разводят в 1000 мл стерильной воды. Чтобы избежать образования комочков, воду вначале добавляют небольшими порциями, тщательно перемешивая стеклянной палочкой, а затем колбу ставят на качалку и перемешивают 20 мин.

Полученную суспензию последовательно разводят от 10 тыс. до 1 млрд. Для этого в поставленные в штатив 6 пробирок, обеспечивая при этом и в последующем стерильность (стерильные пробирки, ватные пробки, градуированные пипетки, вода; все операции над пламенем спиртовки и т. д.), наливают по 9 мл воды и по 1 мл суспензии. В первую пробирку берут из колбы 1 мл суспензии, после тщательного перемешивания из первой пробирки переносят 1 мл суспензии во вторую и т. д.

Для получения питательной среды 200 г очищенного картофеля нарезают кубиками по 1,5 см, варят 15...20 мин от начала кипения, отфильтровывают в колбу, добавляют 20 г сахарозы, агар (из расчета 18 г на 1 л среды), нагревают до растворения последнего и после стерилизации разливают в чашки Петри. Стерилизацию проводят лаборант в автоклаве в течение 20...30 мин при давлении 760 мм рт. ст. Если автоклава нет, среду кипятят в колбе, закрытой ватно-марлевой пробкой в течение 1 ч.

Среду разливают в чашки Петри, стерилизованные над пламенем горелки, по 15...20 мл в каждую. Через 30 мин стерилизованной мерной пипеткой с отпиленным кончиком носика переносят в чашки Петри со средой по 1 мл суспензии из пробирок с тремя последними разведениями (в 10, 100 млн. и 1 млрд. раз). Чашку покачивают, чтобы суспензия равномерно распределилась по поверхно-

сти питательной среды. Чашки завертывают в бумагу и ставят в термостат для прорастания спор при температуре 24...26°C. В целях экономии времени и материала каждый из четырех студентов подгруппы (12 чел.) засеивает по одной чашке Петри суспензией спор, взятых из пробирки с одним из указанных разведений. В этом случае на подгруппу будет получено по 3 варианта изучаемой суспензии в 4 повторностях.

Просмотр чашек начинают через 2...3 суток и заканчивают на 5-е сутки, чтобы убедиться, что появившиеся колонии относятся к боверии, а не к посторонней микрофлоре. К этому времени они становятся белыми, пушистыми. При просмотре препарата под микроскопом видно, что конидиеносцы расположены преимущественно мутовчато, расширены у основания и оканчиваются к вершине в виде тонкого зигзагообразного волокна, а споры шаровидные.

Подсчитав число колоний гриба, выросших в чашках Петри, определяют титр анализируемого препарата. Если в чашках с последней степенью разведения (1 млрд.) выросло 2 колонии, а с предпоследней (100 млн.) – 20, то препарат соответствует стандарту – 2 млрд. жизнеспособных спор в 1 г сухого порошка. При меньшем числе колоний в чашках с соответствующим разведением определяют, в какой степени споры потеряли свою жизнеспособность. При отсутствии колоний в чашках со всеми тремя разведениями можно взять на анализ суспензию из трех первых пробирок (разведение в 10, 100 тыс. и 1 млн.).

Контрольные вопросы

1. Назовите особенности каждого из способов производства грибных препаратов, укажите отличия.
2. Какими свойствами обладают препараты микогербициды?
3. Назовите препараты на основе энтомопатогенных грибов?
4. Как и для чего определяется эффективность биопрепарата боверин в лабораторных условиях?
5. Сколько жизнеспособных спор должно быть в препарате боверин?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 7.

Методика применения грибного биопрепарата «Фитоверм»

Цель занятия: изучить особенности применения препарата фитоверм на с.х. культурах, ответить на вопросы.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», микроскопы, камеры Горяева, пипетки, спирт, суспензия биопрепарата (фитоверм).

Фитоверм в первую очередь действует на насекомых как контактное отравляющее средство, поэтому он эффективен против вредителей, которые имеют мягкий и тонкий покров тела, а уже во вторую очередь оказывает кишечное действие.

Базовым действующим веществом препарата является *аверсектин С*. Данный компонент был разработан на основе продуктов метаболизма почвенных грибов рода *Стрептомицес*.

В результате попадания вещества в организм насекомых (через кожу вредителей или через желудочно-кишечный тракт), у вредителей нарушается процесс метаболизма, они прекращают процесс питания и размножения.

При этом *аверсектин* оказывает негативное влияние на работу нервной системы в целом, вызывая у насекомых нервный паралич, поэтому большинство вредителей спустя несколько суток погибает.

Что касается сосущих насекомых и клещей, то на них данное вещество оказывает воздействие с некоторой задержкой, поэтому их гибель происходит в течение последующих семи суток.

Особенности применения препарата фитоверм.

Данное средство защиты растений оказывает инсектицидное и акарицидное действие.

При использовании биопрепарата необходимо помнить, что чем выше температура окружающей среды, тем лучшим будет эффект после обработки растений. Например, при использовании препарата при понижении температуры воздуха с +20° до +15°C, эффективность средства падает втрое.

Оптимальной для обработки считается температура около +30°C.

Следует также помнить, что яркий солнечный свет и повышенный уровень влажности оказывает на базовое вещество разрушающее действие и ускоряет процесс его распада, в результате чего эффективность препарата может заметно снижаться.

Как результат, одной обработки чаще всего недостаточно и опрыскивание приходится производить до трех раз.

Обработку растений желательно производить либо ранним утром, либо вечером, при теплой, сухой и безветренной погоде.

Приступать к опрыскиванию следует, как только на участке появятся первые особи насекомых.

Обработка цветущих растений производится два раза: непосредственно перед распусканием бутонов и сразу после того как растения отцветут. В этом случае полезные насекомые-опылители не страдают.

Фитоверм эффективен против тли, белокрылки, личинок колорадского жука и многих других вредителей. При этом его можно применять в условиях как открытого, так и закрытого грунта (в оранжереях, теплицах, парниках).

Повторное опрыскивание препаратом препятствует размножению взрослых насекомых, которые на момент первого опрыскивания могли находиться в фазе личинок, куколок или нимф.

По этой причине опрыскивание растений следует производить до полного уничтожения всех насекомых.

«Фитоверм» обладает широким спектром акарицидного, инсектицидного действия, направленного против: растительноядных клещей; колорадского жука; щитовок; пилильщиков; листоверток; плодожорок; белокрылок; пядениц; трипсов; тлей; галловых клещей и других вредителей.

Состав, форма препарата и принцип действия.

Это бесцветная жидкость, действующее вещество – «Аверсектин-С».

Выпускается с различной дозировкой в следующих формах:

«Фитоверм-КЭ», дозировка 2 гр./л. или 10 гр./л.;

«Фитоверм-П», дозировка 2 гр./кг. или 8 гр./кг.

Фасуется в различные емкости – ампулы 2 мл, 4 мл., 5 мл., небольшие флаконы 10 мл., 30 мл., 50 мл., 100 мл. Для использования в

промышленном агропроизводстве – объем упаковки 200 мл, 400 мл и канистры по 5 л.

Принцип действия следующий. Через 6-16 часов (для грызущих насекомых 6-8 часов, для сосущих насекомых 12-16 часов) после обработки препарат вызывает паралич и насекомые перестают питаться. Гибель вредителей наступает на 2-3 суток после обработки. Полное воздействие препарата происходит на 5-7 суток.

Инструкции по применению.

Препарат наносится на растение путем опрыскивания по мере появления вредителей в период вегетации растений.

Одной обработки «Фитовермом» недостаточно для полного уничтожения вредителя. Рекомендуются повторные 2-3 обработки с интервалом 3-7 дней, в зависимости от окружающей температуры и вида вредителя. Незначительные осадки, обильная роса, низкая температура снижают эффективность препарата.

Период защитного действия не менее 7-20 суток.

Контрольные вопросы

1. На каких насекомых действует фитоверм?
2. Механизм действия препарата.
3. Особенности применения препарата.
4. Сколько обработок необходимо произвести, и при какой погоде?
5. Состав, форма препарата и принцип действия.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 8.

Особенности использования вирусных препаратов

Цель: познакомиться с вирусами, являющимися основой биопрепаратов, закрепить теоретический материал.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология» «Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации» за текущий год.

Вирусы являются простейшими неклеточными формами жизни, которые паразитируют в клетках хозяина на молекулярно-генетичес-

ком аппарате. Вирусы широко распространены в природных популяциях. В настоящее время известно более 800 возбудителей вирусных заболеваний членистоногих, из них около четверти приходится на чешуекрылых.

Вирусы насекомых высокоспецифичные и безопасны для человека и сельскохозяйственных животных, не загрязняют среды обитания. Их характеризует более низкая норма применения, по сравнению с другими биологическими средствами защиты растений.

Вирусные частицы весьма чувствительны к внешним воздействиям и не могут долго сохраняться вне клетки. Однако, будучи заключенными в защитную белковую оболочку (полиэдр или гранулу), вирусы способны сохранять свою активность в природных условиях на протяжении многих лет.

Вирусы насекомых, как и другие вирусы, могут развиваться только в клетках живых организмов, поражая их цитоплазму или ядро. В соответствии с этим различают ядерные и цитоплазмные вирусы. Наибольший интерес для биологического способа борьбы имеют три группы вирусов: вирусы ядерного и цитоплазмного полиэдрозов и вирусы гранулеза.

Бакуловирусы могут быть использованы в качестве биоинсектицидов против значительного количества вредных видов благодаря их высокой вирулентности, специфичности и пролонгированной активности за счет эпизоотий.

Также можно ставить задачу не полного уничтожения вредителя, а только уменьшения его численности до экономически неопасного уровня. Достаточно при этом одной вирусной обработки, поскольку в популяции вредителя устанавливается равновесие между насекомым и вирусом, которое может сохраняться очень продолжительное время.

Основой вирусных энтомопатогенных препаратов (виринов) служат, как правило, бакуловирусы (сем. *Vaculoviridae*). По морфологии включений бакуловирусы делят на две подгруппы: А и В. Подгруппа А – возбудители ядерных полиэдрозов. Представляют собой полиэдры (многогранники), внутри которых расположены вирионы. Подгруппа В – возбудители гранулезоз. Каждый вирион заключен в белковый матрикс, овальной формы, который называется гранулой.

Вирусные энтомопатогенные препараты пока производятся в малых количествах. Это связано с тем, что вирусы способны размно-

жаться **только** на живых насекомых (сырьевые культуры) или в культуре клеток, а этот процесс очень трудоемок. Высокая специфичность вирусов обуславливает их действие только на одного вредителя, что отражается в названии вирусных препаратов.

Например, в США выпускаются производные этих вирусов, такие препараты как биотрол, вирон Н2 и другие.

Вирин ЭКС готовится из биологического материала (инфицированных вирусом ядерного полиэдроза гусениц чешуекрылых – шелкопрядов, совок и др.) в виде порошка с титром (концентрацией) 1 млрд. полиэдров на 1 г препарата. Его рекомендуют для борьбы с гусеницами младших возрастов капустной совки при нормах расхода 100-200 г/га. Смертность вредителя достигает 88%.

Вирин ХС также выпускается в виде дуста, но с большим титром (7 млрд полиэдров на 1 г). Применяется против гусениц хлопковой совки. При дозе 0,5 кг/га численность вредителей через 2 недели после обработки снижается на 90%.

Среди зарубежных препаратов, получаемых на основе вируса ядерного полиэдроза, известны элькар (против хлопковой совки), джипчик, биоконтрол (против непарного шелкопряда). В перспективе приоритет будет отдан комплексным препаратам, в состав которых входит целый набор возбудителей, поражающих насекомых. Уже опробована порошкообразная форма – вирин АББ-3, содержащий вирусы ядерного полиэдроза, гранулеза общего и кишечного типа (титр 6 млрд./г). Применение его в лесных и садовых насаждениях при норме расхода 100 г/га обеспечивало смертность гусениц американской белой бабочки в пределах 90-95%.

Вирусные препараты для защиты от болезней растений включают Пентафаг на основе бактериофагов и вирусные вакцины.

Пентафаг – биопрепарат, действующее вещество которого вирионы пяти штаммов бактериальных вирусов, а также биологически активные вещества, которые образуются при лизисе бактерий. Рекомендуется для защиты от болезней огурцов, томатов, груш, яблони и других сельхозкультур. Препарат Пентафаг С обладает профилактическим и лечебным действием против широкого спектра бактериозов сельскохозяйственных культур: плодовых (груша, яблоня, вишня, слива, черешня и др.), овощных (огурцы, томаты). Правильное применение препарата приводит почти к полному подавлению проявлений бактериального рака плодовых, дырчатой пятнистости

косточковых, угловатой пятнистости огурцов и других тыквенных. Кроме того, препарат эффективен при защите томатов от бактериальной пятнистости, от ряхуи табака, бактериозов гороха, фасоли и сои, других бобовых растений, бактериозов зерновых, чая, цитрусовых, женьшеня, он снижает повреждение растений мучнистой росой и паршой.

Применение препарата Пентафаг улучшает качество плодов и овощей, увеличивает урожай минимум на 5-10%, а огурцов в открытом грунте – до 50%. Минимальная концентрация фагов – 10 млрд. частиц в 1 см³ препарата. Это жидкость желтовато-коричневого цвета, со слабым запахом хлороформа. Допускается небольшой осадок, состоящий из остатков лизированных бактериальных клеток.

Препарат безвреден для человека, теплокровных животных и полезных насекомых, не загрязняет окружающую среду. Концентрат хорошо сохраняется в течение года на складе для хранения биопестицидов или на химскладе при температуре не ниже 0°C и не выше 20°C. Хорошо растворим в воде. При заправке опрыскивателей рекомендуется сначала слить осадок, содержащий хлороформ. Применяется для профилактических и лечебных обработок плодовых и овощных культур против бактериозов. Это экологически чистый препарат, применяемый для биологической защиты растений от болезней. Обладает профилактическим и лечебным действием против широкого спектра патогенов и, в первую очередь, бактериозов сельскохозяйственных культур.

Для повышения эффективности действия препарата против бактериального рака опрыскивание плодовых деревьев 0,1%-ной суспензией биопрепарата следует проводить систематически в течение трех-четырёх лет. Профилактическую обработку плодовых деревьев производят до и после цветения и после уборки урожая перед листопадом. Лечебную обработку растений осуществляют с появлением первых признаков заболевания, затем 3 раза через каждые 15–20 суток. Последовательно проведенные мероприятия позволяют на 50% снизить распространение болезни.

Добавление биопрепарата пентафага в состав лечебной замазки увеличивает ее биологическую эффективность на 13,4-59%. Наиболее высокая эффективность получена при использовании лечебной замазки, состоящей из глины и коровяка (1:1) с добавлением 0,5% пентафага. Кроме того, на участках, где в течение двух лет проводи-

ли обработку пентафагом, у деревьев выявлено увеличение однолетнего прироста, окружности штамба и площади кроны. Пентафаг обладает хорошей эффективностью против угловатой пятнистости огурца. Для получения наилучших результатов первую обработку растений необходимо проводить в период появления всходов суспензией препарата с титром 1-3 x 10⁷ частиц/мл. Кратность последующих опрыскиваний определяется степенью устойчивости сорта к возбудителю угловатой пятнистости, длительностью массового плодоношения растений и сохранением бактериофагов на листьях и плодах. Проводят от двух до четырех обработок с интервалом 12-14 дней.

Наиболее эффективно применение препарата в вечернее время суток при высокой относительной влажности (90% и выше). Пентафаг хорошо совместим со всеми биопестицидами и может смешиваться с ними в любой пропорции. Совместим он также с большинством фунгицидов и инсектицидов, кроме метафоса, БИ-58 и других, относящихся к этой группе.

Основные термины:

Бактериофаг – вирус, хозяином которого является бактерия.

Белковый матрикс – объемное белковое образование, в которое погружены вирионы бакуловирусов.

Биопестицид – это биопрепарат, средство подавления численности вредителей, фитопатогенов и сорняков, активным ингредиентом которого являются агенты биологической природы.

Вирин – обозначение вирусных инсектицидных препаратов.

Вирион – вирусная частица.

Культивирование – выращивание микроорганизмов или отдельных клеток растений и животных.

Контрольные вопросы

1. Назовите биопрепараты на основе вируса полиэдроза и гранулеза.
2. Перечислите препараты, которые активно применяются в сельском хозяйстве на современном этапе.
3. Укажите особенности при наработке энтомопатогенных вирусных препаратов, а также проведите сравнение с получением бактериофагов, отметьте отличия в их производстве.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 9.

Производство антибиотиков, биологически активных веществ насекомых и их синтетических аналогов для защиты растений

Цель: ознакомиться с особенностями производства антибиотиков и биологически активных веществ насекомых, их синтетических аналогов и возможности использования в защите растений.

Учебные материалы и оборудование: учебные пособия «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений». Чистые культуры фитопатогенных грибов, микроорганизмы – антагонисты возбудителей заболеваний, антибиотики.

За последние 80 лет проведено много исследований, посвященных использованию антибиотиков в борьбе с фитопатогенными организмами, наносящими ущерб сельскому хозяйству.

Известно, что заболевания растений вызываются разными группами фитопатогенных организмов: вирусами, бактериями, грибами, простейшими и др. Поражение растений происходит как при развитии в полевых условиях, в садах, так и в теплицах и оранжереях.

Источниками заражения растений фитопатогенными организмами могут быть семена (с наружной и внутренней инфекцией), растительные остатки, посадочный материал (черенки, саженцы, клубни, корнеплоды) и сама почва.

При выборе антибиотика для борьбы с возбудителем заболевания и очагом его распространения, а также способа применения препарата основное внимание обращают не только на биологический эффект, но и на экономическую сторону, и на экологические аспекты. Назначение препарата и метод его применения должны быть экономически выгодными и экологически безвредными. Антибиотики по своей природе являются биологически активными веществами и оказывают более сильное влияние на растения, повышая устойчивость к заболеваниям, стимулируя рост растений и способствуя повышению урожая. Их воздействие связано с подавлением развития возбудителей болезней растений, а также способностью к нейтрализации токсинов и ферментов, выделяемых ими. Антибиотики обладают высокой активностью по отношению чувствительных к ним организмов и

выраженной избирательностью действия. Кроме того, антибиотики должны обладать способностью проникать в ткани растения и перемещаться по нему.

Основные требования, предъявляемые к антибиотикам, используемым в борьбе с фитопатогенными организмами, сводятся к следующему: 1) антибиотик должен быть активным против возбудителя заболевания, обладать специфичностью биологического действия; 2) легко проникать в ткани растений; 3) лечебные дозы должны быть безвредными для растения; 4) антибиотик на поверхности и внутри растения не должен быстро инактивироваться, но, попадая в почву, легко разлагаться там; 5) обладать биологическим действием внутри тканей растения; 6) не наносить ущерба окружающей среде.

Одно из существенных требований к антибиотикам, применяемым в сельском хозяйстве, то, что они не должны использоваться в медицинской практике.

Методы использования антибиотиков выбирают в зависимости от вида заболевания (сосудистый вилт, поражение листьев и др.), стадии развития растения, размеров растения, места произрастания и способа посадки. Наиболее широкое применение имеют непосредственная обработка почвы, обрызгивание или опыливание антибиотиком наземных частей растений, смачивание семян, корней или других органов растворами антибиотиков и др.

Все приемы использования антибиотиков основаны на том, что препарат, нанесенный на поверхность листьев, ствола (стебля), семян или же внесенный в почву, задерживает рост или убивает фитопатогенные организмы, находящиеся как на поверхности, так и внутри органов и тканей растения.

Антибиотики, нанесенные на наземные части растений или внесенные в почву, проникают в растение через корневую систему, стебель или листья и довольно быстро расходятся по растению. Однако такие антибиотики как глобиспорин и гризеофульвин распространяются по тканям и органам растения очень медленно.

Попав в растение, антибиотики сохраняются в его тканях сравнительно долго - от 5 до 20 суток.

Внесение антибиотиков в почву. Растворы антибиотиков, внесенные в почву, поглощаются корневой системой растений и через некоторое время в зависимости от вида растения и свойств антибиотика обнаруживаются как в тканях корней, так и в наземных частях

Ткани растений могут содержать значительные концентрации антибиотика, поступившего через корневую систему. Такого количества вполне достаточно для задержки роста или подавления развития патогенных форм микробов.

При погружении корневых систем в растворы антибиотиков уже через 10-20 минут препараты обнаруживаются в различных органах растений. Установлено, что пенициллин накапливается в листьях избирательно. При обработке семян антибиотиками последние быстро проникают в оболочку и зародыш и сохраняются там продолжительное время.

При внесении антибиотиков в почву с целью борьбы с фитопатогенными организмами встречается ряд серьезных препятствий. Прежде всего, в почве антибиотики быстро разрушаются под влиянием продуктов жизнедеятельности почвенных микробов и по другим причинам. Кроме того, антибиотики потребляются почвенными организмами в качестве питательных веществ. Многие антибиотики основной природы необратимо адсорбируются коллоидами почвы, поэтому внесение их непосредственно в почву в ряде случаев может оказаться нерентабельным мероприятием.

Защитное воздействие микроорганизмов в препаратах чаще связано с их способностью вести паразитический образ жизни, либо с их антибиотической активностью. Так, например, некоторые актиномицеты рода *Actinomyces* являются паразитами клещей, вызывая актинوميкозы и в результате их быструю гибель. Представители рода *Streptomyces* являются мощными продуцентами антибиотиков стрептомицинового ряда. Эти вещества обладают сильнейшим фунгицидным действием и вызывают угнетение роста и гибель многих фитопатогенных грибов (табл.)

К биологически активным веществам (БАВ) относят также БАВ насекомых, которые влияют на гормональную активность насекомых. Регуляторы роста и развития насекомых (РРР) делятся на три группы: аналоги ювенильных гормонов (ювеноиды), ингибиторы синтеза хитина, а также феромоны насекомых. Они способны вызывать у особей своего вида изменения в развитии и поведении. Их назначение для защиты растений разнообразно, например, для обнаружения вредных видов, для надзора за вредителями, для сигнализации сроков проведения защитных мероприятий, для непосредственного снижения численности фитофагов.

Таблица. Препараты на основе актиномицетов

Название препарата	Действующее начало	Механизм действия	Применение против (спектр действия)
Алирин	<i>Streptomyces Felleus</i>	Антагонизм	Корневых гнилей огурца
Актинин	<i>Actinomyces</i>	Паразитизм	Паутиного клеща
Фикобактериомицин	<i>Streptomyces Lavandula</i>	Антибиоз и антагонизм	Корневых гнилей фасоли, сои и пшеницы
Микостоп	<i>Streptomyces Griseovirides</i>	Антибиоз	Фузариоза гвоздики

Феромоны – химические синтетические препараты (аналоги природных ароматических веществ), выделяемые готовыми к спариванию самками для привлечения самцов в соответствии с видовой специфичностью. Феромоны подразделяют на половые, агрегационные, тревоги, следовые и т.п. Наиболее хорошо изучены половые феромоны насекомых обоих полов. Для привлечения насекомых используют различного вида ловушки, которые устанавливают в насаждении в период массового лёта насекомых.

Обычно феромоны у насекомых выделяются сразу после завершения метаморфоза. Феромоны – это многокомпонентные смеси, легко распространяющиеся в воздухе и создающие вокруг самок активное пространство. У самки непарного шелкопряда при скорости ветра 1 м/с длина феромонного облака составляет 4 500 м, ширина – более 200 м. Полет самцов определяется направлением ветра. Для обеспечения внутривидовых связей насекомые продуцируют небольшое количество половых феромонов. В защите растений используют синтезированные половые феромоны, при этом преследуются следующие цели: мониторинг численности вредителя, дезориентация самцов и снижение плотности популяции за счет отлова части самцов.

Половые феромоны используют в основном против чешуекрылых насекомых (непарный шелкопряд, дубовая зеленая листовертка, яблоневая плодожорка). В настоящее время в защите растений применяют следующие феромонные препараты: диспарлюр – для отлова самцов непарного шелкопряда; вертенол БС-1, БС-2 – для привлечения жуков короеда-типографа.

Для привлечения насекомых феромоны помещают в различного вида ловушки. В зависимости от вида насекомого они имеют различные конструкции.

Кайромоны – вещества, вызывающие определенную поведенческую реакцию у насекомых: концентрацию энтомофагов на определенных участках территории в целях усиления их деятельности; повышение поисковой способности паразитов при массовом разведении энтомофагов. Использование кайромонов в сочетании с другими биологически активными веществами дезориентирует насекомых в поисках хозяина.

Репелленты – аналоги запахов, отпугивающих насекомых от объекта питания. Наиболее распространены репелленты для защиты человека и сельскохозяйственных животных.

Гормональные препараты – модели (аналоги) основаны на вмешательстве в физиологию живых существ на молекулярном уровне. Они быстро распадаются на составные части, поэтому не представляют опасности для человека и животных. В отличие от обычных пестицидов гормональные вещества не являются ядами, не оказывают отравляющего действия ни на один из типов клеток организма, не нарушают и не убивают клетки и ткани, а лишь нарушают согласованность и последовательность процессов их дифференциации.

К гормональным препаратам относятся экдизоны – сложные химические синтетические вещества, аналоги гормонов линьки насекомых. Они чрезмерно усиливают процесс линьки, при этом шкурки не сбрасываются, что нарушает процесс питания и обеспечивает гибель насекомых на фоне обилия корма. Ювеноиды – аналоги ювенильного гормона, подавляющие метаморфоз и метаболизм насекомых. Они обеспечивают сильное снижение активности нейросекреторных клеток вплоть до их дегенерации.

Ингибиторы – вещества, замедляющие протекание химических реакций или прекращающие их, или вещества, тормозящие биологические процессы. При этом нарушается хитин клеток. Наиболее часто в защите растений используют препарат димилин – ингибитор синтеза хитина.

Против разных групп насекомых и клещей используют также ин-

гибиторы – производные мочевины: сонет (против листоедов), аполло (против паутиных клещей), ниссоран (против клещей) и др.

Стерилилянты – общее название средств, нарушающих способность организма к размножению (химические препараты, радиационная дезинсекция, гамма-облучение), в том числе хемотрепидаторы – химические препараты для стерилизации самцов и самок в целях снижения и последующего самоуничтожения природной популяции вредных насекомых.

Регуляторы роста растений (PPP) – химические препараты, положительно влияющие на процессы роста и развития растений (гиббереллин). Они легко растворимы в воде и свободно проникают в растения. Их применяют также для обработки семян.

Антифиданты – химические вещества, предохраняющие растения от поедания насекомыми. Они отпугивают насекомых от пищи.

Суперфиданты – стимуляторы обжорства, возбуждающие аппетит у растительноядных насекомых. Насекомые поедают обработанный корм до тех пор, пока не погибнут.

Основные термины:

Антибиотики – специфические продукты жизнедеятельности организмов, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов и избирательно задерживают их рост или полностью подавляют развитие.

Биологически активные вещества – продукты жизнедеятельности живых организмов разнообразной химической природы, обладающие в очень малых концентрациях активностью по отношению к другим организмам.

Ингибиторы синтеза хитина – соединения, блокирующие синтез хитина насекомых во время линек, обладающие также стерилизующим действием на имаго.

PPP – регуляторы роста и развития насекомых (ювеноиды, ингибиторы синтеза хитина, феромоны)

Ювенильный гормон – тип гормонов, присущий насекомым и другим животным на определенных фазах развития.

Ювеноиды – синтетические вещества, обладающие характером действия ювенильного гормона.

Контрольные вопросы

1. Какими методами проводят определение антибиотической и антагонистической активности антибиотиков?
2. Назовите основные свойства, которыми должны обладать антибиотики, применяемые в сельском хозяйстве.
3. Укажите как делаются регуляторы роста и развития насекомых, отличия групп между собой.
4. В зависимости от чего выбирают методы использования антибиотиков ?
5. Как вносятся антибиотики в почву?
6. Что еще относится к БАВ?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 10.

Способы биологической регуляции насекомых

Цель занятия: изучить факторы изменения численности популяций насекомых в реальной природной обстановке, ответить на вопросы.

Учебные материалы: учебные пособия «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений».

Многолетние наблюдения за популяциями разных видов насекомых показывают, что численность насекомых в природе из года в год различна, но эти изменения происходят в определенных пределах. Верхний предел, конечно, обусловлен имеющимися ресурсами существования данной популяции, емкостью ее среды. Нижний предел – нулевая линия, при достижении которой популяция полностью вымирает. Вполне возможно, что последнее – распространенный случай, но это не означает, что в данном биотопе на следующий год эти насекомые будут полностью отсутствовать. Иммигранты из соседних выживших популяций создадут популяцию заново. В принципе, способность насекомых, как и других организмов, увеличивать численность популяции за счет размножения безгранична.

В природе, однако, верхний предел численности практически никогда не достигается по следующим причинам. Во-первых, при благоприятных условиях происходят спонтанные изменения генетичес-

кой структуры популяции, приводящие к тому, что способность популяции к росту постепенно снижается (внутреннее сопротивление). Именно при благоприятных условиях выживают и дают потомство генетически неполноценные особи. В результате уменьшаются и жизнеспособность популяции в целом, и ее способность к размножению. Интересно, что при определенных условиях спонтанно возникают ритмические изменения средних характеристик популяции с периодом в 1-2 или более поколений. По-видимому, генетические изменения свойств популяции играют большую роль в динамике численности («волны жизни»). К сожалению, этот вопрос остается мало изученным. К этому следует добавить, что подобным же образом может меняться во времени генетическая структура популяций других организмов, взаимодействующих с данным видом: микроорганизмов, растений, других насекомых и т.д.

Во вторых внешняя среда, включающая в себя массу абиотических и биотических факторов, препятствует беспредельному росту численности популяции (сопротивление среды). Каждый из факторов оказывает как специфическое, так и опосредованное воздействие. В природе можно наблюдать популяции насекомых, сохраняющиеся на протяжении десятков и сотен лет.

Часто высказывается представление о колебаниях численности популяции в биоценозе как о саморегулирующемся процессе. Популяция рассматривается как эластичная натянутая нить, которая может быть отклонена внешними факторами до определенных пределов вверх или вниз, но при ослаблении воздействия опять возвращается к прежнему уровню. Анализ взаимодействий популяции с окружающей средой позволяет создавать математические модели динамики численности, необходимые для прогнозирования и управления биоценозами. При построении таких моделей используют данные таблиц выживания. Очевидно, что помимо генетических спонтанных процессов уровень численности популяции должен зависеть от количественных и качественных характеристик биоценоза, от источников пищи, от численности хищников и паразитов. Влияние всех этих элементов биоценоза модифицируется реальными микроклиматическими условиями, в которых обитают или переживают неблагоприятный сезон насекомые. Конечно, микроклимат оказывает и существенное непосредственное воздействие на наблюдаемую популяцию.

Насекомые приобретают значение вредителей сельскохозяйствен-

ных культур только в том случае, если их численность превосходит экономические пороги вредоносности, поскольку отдельное, даже самое прожорливое насекомое не в состоянии нанести существенный вред урожаю. Поэтому планирование защитных мероприятий и соответствующие научные исследования направлены на сокращение до этих порогов числа особей в популяциях. Динамика численности популяций насекомых проявляется либо в сезонном изменении их численности на протяжении года, либо на протяжении ряда лет, приобретая при этом благодаря исключительной энергии размножения многих видов характер закономерно чередующихся популяционных волн

Изменения численности популяций насекомых в реальной природной обстановке определяются факторами разного рода: климатом (абиотические факторы), существованием и активностью других организмов (внутривидовые и межвидовые отношения) и в значительной степени последствиями хозяйственной деятельности человека (антропогенные факторы). Чрезвычайное многообразие этих факторов и сложность опосредуемых ими влияний обуславливают существование различных концепций роли отдельных факторов в динамике численности популяций насекомых.

Природные взаимосвязи намного разнообразнее, чем наблюдаемые в экспериментальных ситуациях. Существуют две противоположные точки зрения о роли факторов разных категорий в регуляции численности популяций. Полагая, что уровень численности определяется факторами, не зависящими от плотности популяций, сторонники одной точки зрения ссылаются на редкость сочетания условий, необходимых для постоянного роста популяций. Примеры массовых размножений насекомых, по их мнению, редкие исключения из правила и выражают специфические свойства немногих видов.

Численность популяций подавляющего большинства видов лимитируется краткостью сроков, когда сочетания условий обеспечивают рост популяции. При этом основными, лимитирующими численность факторами, можно считать ограниченность ресурсов, их относительную недоступность при слабом развитии миграционных и поисковых способностей, а также скоротечность периода, когда рождаемость преобладает над смертностью, а скорость роста популяций положительна. Однако случайность колебаний численности в

ответ на изменение условий, не связанных с плотностью популяций, рано или поздно приведет популяции к нижним пределам численности и вымиранию. Придерживаясь другой точки зрения, которая отдает предпочтение факторам, зависящим от плотности популяций, исследователи – приверженцы противоположного направления – сформулировали концепцию автоматического регулирования численности популяций.

До недавнего времени поиски критериев для оценки регулирующей роли указанных факторов ограничивались лишь плотностью популяций, которая сокращается, если превышает некоторый средний ее уровень, или, наоборот, увеличивается, если этот уровень остается недостижимым. Численность популяций не остается постоянной, так как меняются условия их существования. Диапазон колебаний численности популяций зависит от степени изменчивости абиотических и биотических факторов, а также от биологических особенностей конкретного вида (плодовитости, скорости смены поколений, возраста достижения половой зрелости особей и др.). Самые большие диапазоны колебаний численности характерны для мелких быстро размножающихся организмов, в т. ч. для насекомых.

Насекомые, будучи мелкими существами, отличаются исключительно высоким биотическим потенциалом. Высокое значение биотического потенциала означает возможность возникновения резких всплесков численности, опасных для хозяйственной деятельности человека. Кроме того, способность быстро увеличивать свою численность является основой для использования насекомых как источника животного белка.

Контрольные вопросы

1. Что означает верхний и нижний предел изменений?
2. Благодаря чему достигается верхний предел численности насекомых?
3. В каком случае насекомые приобретают значение вредителей?
4. Как проявляется динамика численности популяций насекомых?
5. Какими факторами определяются изменения численности популяций насекомых в реальной природной обстановке?
6. В чем роль факторов разных категорий в регуляции численности популяций?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 11.

Массовое разведение насекомых на примере трихограммы

Цель: ознакомление с основными типами культур насекомых, а также особенностями массового разведения и применения насекомых на примере трихограммы.

Учебные материалы: учебные пособия «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология».

В нашей стране проведена большая работа по механизации наиболее трудоемких процессов производства многих энтомофагов, в том числе и трихограммы. Механизированная линия, созданная учеными ВИЗР совместно со специалистами НПО «Агроприбор», позволяет получать около 2 млрд. особей паразита за сезон, что обеспечивает его разовый выпуск примерно на 30-40 тыс. га. Работает большое число механизированных линий на биофабриках и во многих крупных биолaborаториях, и число их с каждым годом увеличивается, так как биологическим средствам защиты растений опять начинают уделять большое внимание.

Широкие перспективы развития массового разведения энтомофагов и их хозяев - растениеядных насекомых, как отрасли биотехнологии, открыла разработка технологии механизированного разведения трихограммы на яйцах зерновой моли (ситотроги), создание экспериментального образца биофабрики (Андреев СВ.) В настоящее время трихограмма разводится в больших количествах и применяется в борьбе с вредными чешуекрылыми на площади свыше 15 млн. гектаров сельскохозяйственных культур.

Выделены три вида и 15 внутривидовых форм трихограммы, в разной степени приспособленные к определенным хозяевам и конкретным экологическим условиям. Так, местные формы трихограммы обыкновенной (*Trichogramma evanescens*) более эффективны на полевых культурах против совок и кукурузного мотылька. Трихограмма желтая «плодожорочная» (*T. sacoscia pallida*) оказалась эффективной для борьбы с яблонной плодожоркой в некоторых районах с умеренным климатом и достаточным увлажнением. А бессамцовая трихограмма (*T. embryophagum*) – в более засушливых районах.

Род относится к семейству Trichogrammatidae надсемейства Chalcidoidea отряда перепончатокрылых насекомых.



Трихограмма в целом достаточно многоядна и пластична, но различные экологические формы проявляют более узкую пищевую специализацию к яйцам определенной группы фитофагов и имеют более узкие пределы оптимальных условий для их развития.

Трихограмма не способна к активному расселению на сколько-нибудь значительное расстояние, ограничиваясь короткими перелетами в радиусе 15-30 м.

Одним из главных факторов, ограничивающих увеличение численности природной трихограммы, служит отсутствие синхронности в развитии между паразитом и хозяином.

Основной фактор, ограничивающий эффективность природной трихограммы – отсутствие синхронности в ее развитии и развитии какого-либо определенного хозяина, в том числе озимой и капустной совок. Весной вылет паразита происходит обычно на 2-4 недели раньше, чем начинается откладка яиц ее основными хозяевами. По этой причине значительная часть взрослых самок погибает, не имея возможности заражать яйца вредных насекомых.

По этим причинам специальные биолaborатории осуществляют массовое размножение и применение трихограммы методом сезонной колонизации или ежегодных выпусков в агроценозы. Паразитов выпускают в начале яйцекладки насекомых-хозяев в расчете на то, чтобы они успели в течение данного поколения вредителя дать два поколения собственного вида. На высокий эффект можно рассчитывать лишь при точном соблюдении сроков выпуска.

Массовое размножение трихограммы осуществляют на яйцах амбарного вредителя – зерновой моли ситотроги (*Sitotroga cerealella*), разводимой чаще всего на зерне ячменя или кукурузы в течение круглого года.

Методика разведения трихограммы подробно изложена в Методических указаниях по промышленному производству трихограммы на биофабриках (М., 1983) и состоит из операций, большинство из которых схематично представлены на рисунке.

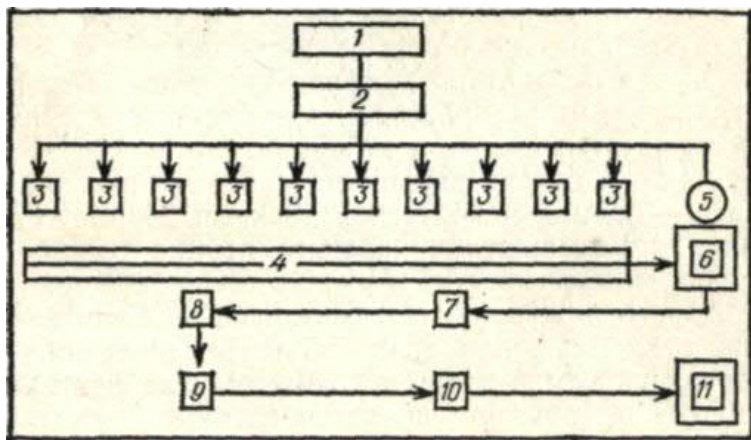


Схема операций и агрегатов по разведению трихограммы:

1 – обеззараживание зерна; 2 – заселение зерна яйцами ситотроги; 3 – разведение ситотроги в боксах; 4 – насекомопровод; 5 – пульт управления; 6 – насекомоприемник с кассетами или коллектор-автомат; 7 – вытяжной шкаф для дозирования и наклеивания яиц; 8 – контейнеры (виварии) с наклеенными на пластины яйцами ситотроги и пеналами с взрослой трихограммой; 9 – биоклиматические камеры для заселения яиц ситотроги трихограммой; 10 – политермостат для премагинального развития трихограммы; 11 – холодильная камера для кратковременного хранения куколок трихограммы перед выпуском.

Применение трихограммы. Исследованиями определены зоны возможного применения трихограммы в европейской части РФ в зависимости от величины гидротермического коэффициента (ГТК). К ним относятся зоны постоянной эффективности (ГТК в период применения паразита 0,9-1,2), неустойчивой эффективности (ГТК 1,3-1,4) и зоны ограниченного использования трихограммы (ГТК 0,5-0,8 и 1,4-1,6). К зоне постоянной эффективности трихограммы относятся лесостепь Поволжья, предгорья Северного Кавказа, южная часть центрально-черноземной зоны.

В борьбе с совками применяется обыкновенная трихограмма. Этот вид используют на сахарной свекле, на парах под озимые, на капусте и других пропашных культурах.

Чтобы установить время выпуска трихограммы, необходимо вести систематические наблюдения за развитием вредителей, против которых ее применяют. В борьбе с озимой и другими подгрызающими совками в зоне с двумя поколениями на сахарной свекле и парах под озимые выпускают 20-30 тыс. штук трихограммы на 1 га против каждого поколения, в зависимости от численности вредителей.

Для борьбы с капустной совкой трихограмму выпускают в два срока: в начале яйцекладки и в начале массовой откладки яиц. При численности до 50 яиц вредителя на 1 кв.м норма выпуска трихограммы на сахарной свекле 20-30 тыс. на 1 га, а на капусте – 40 тыс. При более высокой зараженности полей нормы выпуска трихограммы во второй срок увеличиваются.

В борьбе с кукурузным мотыльком выпуск яйцеда рекомендуется проводить из расчета 70-100 тыс. на 1 га в два приема (по 35-50 тыс.), в начале яйцекладки и через 10 дней.

Для борьбы с яблонной плодовой жоржкой в районах достаточного увлажнения применяют трихограмму желтую «плодожорочную», в более сухих районах и в зоне умеренного климата при сухой погоде – трихограмму бессамцовую. Использование трихограммы достаточно эффективно только в зоне, где вредитель развивается в одном поколении.

По данным ВИЗР, выпуск 150 тыс. яйцеедов (2 грамма) на 1 га в три срока дает наилучшие результаты в европейской части страны. На каждое дерево выпускают всего 1500 паразитов в 2-3 срока. Выпуски проводят в начале яйцекладки, в начале массовой яйцекладки и через 5-7 дней после второго выпуска.

Рекомендуют следующую схему применения трихограммы в сочетании с химическими обработками: одна обработка инсектицидами в рекомендованных дозах, а затем трехкратный выпуск трихограммы (каждый по 50 тыс. на 1 га).

Применение трихограммы и энтобактерина рекомендуется для борьбы с комплексом листогрызущих вредителей плодовых и овощных культур (капуста). Эти биоагенты проявляют более высокую эффективность в отношении разных видов вредителей и как бы дополняют друг друга: трихограмма снижает в основном численность плодовой и листовой мотыльков, а энтобактерин – численность молей, шелкопрядов и других листогрызущих насекомых.

Трихограмма на капусте в большей степени снижает численность совок, а энтобактерин – молей, белянок. Совместное применение трихограммы и энтобактерина позволяет почти полностью исключить химические обработки, в результате чего сохраняются природные энтомофаги, уничтожающие разные виды вредных насекомых и клещей.

Для привлечения и подкормки энтомофагов в междурядьях сада целесообразно высевать нектароносные растения. Удлинение периода цветения достигается высевом нектароносов в разные сроки (три срока за сезон). Из нектароносов могут быть использованы гречиха, горчица, укроп, а в зоне распространения калифорнийской щитовки – фацелия и клевер.

Техника выпуска трихограммы. Трихограмму выпускают в ранние утренние или предвечерние часы. Для этого зараженные яйца (черные) ситотроги расфасовывают в стеклянные стаканчики или банки, которые закрывают плотной тонкой тканью, чтобы не допустить разлета отрождающихся яйцеедов.

При работе с обыкновенной трихограммой в одну банку помещают 1 г яиц и 150-200 небольших привядших листочков какого-либо растения. Банки выносят в поле в период массового вылета трихограммы. Листочки с перебравшимися на них яйцеедами по возможности равномерно распределяют по полю (не менее чем в 50 точках на 1 га). Рабочие, занятые выпуском трихограммы, передвигаются по полю на расстоянии 20 м друг от друга и через каждые 10 м выкладывают листочек с яйцеедами. В саду трихограмму выпускают на каждое дерево в нижнюю часть кроны с теневой стороны.

Эффективность трихограммы обыкновенной против вредных совок составляет 60-90%, а против кукурузного мотылька – 50-70%.

В результате выпуска желтой «плодожорочной» и бессамцовой трихограммы поврежденность яблок плодовой мотыльком снижается в 2-3 раза и значительно увеличивается урожай.

Экономическая эффективность применения трихограммы очень высокая.

Контрольные вопросы

1. Какой основной фактор, ограничивающий эффективность природной трихограммы?
2. На каком насекомом-фитофаге лучше размножать трихограмму?
3. Когда лучше осуществлять выпуск трихограммы?
4. Применение трихограммы и энтобактерина рекомендуется для борьбы с какими вредителями?
5. Какова техника выпуска трихограммы?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 12.

Технология применения габробракона (занятие планируется провести в ФГУ «ФГТ СТАЗР В РСО-А»)

Цель занятия: изучить морфологию, физиологию энтомофага габробракона, и практически ознакомиться с технологией размножения на станции защиты растений, ответить на контрольные вопросы.

Учебные материалы: учебные пособия «Биологическая защита растений», «Биотехнология в защите растений», «Сельскохозяйственная биотехнология».

Создание эффективных средств защиты растений волнуют не только ученых-биологов, но и всех потребителей сельскохозяйственной продукции, поскольку от качества питания напрямую зависит жизнь и здоровье людей, а использование вредных ядохимикатов (пестицидов и их метаболитов), к сожалению, негативно влияет на свойства большинства продуктов. По этой причине сегодня одним из перспек-

тивных направлений по защите растений от вредителей считается биологическое, как наиболее экологический и безопасный способ борьбы с вредителями, поскольку он основан на применении энтомопатогенных организмов. В последние два года в нашей республике успешно стали размножать энтомофага габробракона.

Данный вид наездника имеет научное название *габробракон при-тупленный* (лат. *Habrobracon hebetor* Say) и является перепончатокрылым насекомым, которое паразитирует на гусеницах хлопковой совки, стеблевого кукурузного мотылька, яблонной плодовой гусеницы, мельничной огневки и прочих вредителей. *Habrobracon hebetor* – это небольшая паразитическая оса, длина которой составляет всего 2-3 мм, вес менее 1 мг. Внешне напоминают маленькую мушку, окрас состоит из сочетания 3 цветов – желтый, коричневый и черный. На голове расположены длинные антенны.



Половой диморфизм заключается в наличии маленького яйцеклада и более коротких антенн у самки. Прежде, чем отложить свои эмбрионы, самка предварительно парализует личинку-хозяина, прокалывая ее тело с помощью яйцеклада. В результате инфицированная яйцами наездника гусеница прекращает питаться и вскоре погибает. Из отложенных эмбрионов в течение суток выходят молодые

личинки габробракона, которые около пяти дней развиваются, питаются внутренностями жертвы, а затем там же окукливаются.

В одной личинке носителя может одновременно находиться до десяти яиц, при этом чаще всего заражению паразитом подвергаются преимущественно гусеницы старшего поколения (II и III возраста).

Эмбрионы габробракона имеют миниатюрный размер (около 0,5 миллиметров в длину и 0,2 миллиметра в ширину). Внешней формой близки к цилиндру, окраска – молочно-белого цвета.

Личинка наездника, прежде чем окуклиться, проходит три фазы развития, пока не превращается в куколку, спрятанную в белом шелковистом коконе. Примерно через неделю из кокона в результате метаморфоза выходит взрослое насекомое.

В зависимости от погодных условий развитие одного поколения наездников может занимать от 9 до 18 дней, причем самки погибают на несколько дней раньше самцов.

Плодовитость женской особи составляет от 100 до 150 эмбрионов, хотя отдельные источники утверждают, что одна самка габробракона способна отложить до 800 яиц.

Среди факторов, которые оказывают влияние на плодовитость этих насекомых – численность гусениц в одном хозяине, температура окружающей среды, наличие достаточной кормовой базы.

Чтобы получить полноценные и хорошо развитые эмбрионы, взрослым насекомым требуется дополнительное питание, которое включает как гемолимфу (жидкость, циркулирующую в сосудах и межклеточных полостях жертвы), так и цветочный нектар.

В течение одного летнего сезона (согласно статистическим данным республики Узбекистан) успевает возродиться до 7, поколений наездников.

Зимуют оплодотворенные самки в состоянии диапаузы либо на деревьях, прячась в углублениях коры, или на свернутых, но так и не опавших листьях, в небольших дуплах и расщелинах, в растительных остатках у приствольных кругов.

С наступлением весны, как только температура воздуха поднимется до +16...18°C, имаго габробракона выходят из состояния спячки, насекомые начинают лет и дают начало новому жизненному циклу.

Эти осы быстро питаются, чему способствуют их кишечные фер-

менты, которые быстро разрушают белки крови в личинках моли. Это увеличивает ценность вида как эффективного агента биоконтроля.

При 30 °С (86 ° F) жизненный цикл осы составляет от десяти до тринадцати дней от начального паразитизма до окончательного появления взрослой особи. Взрослая самка живет около 23 дней, в течение которых откладывает около 100 яиц. От 1 до 8 яиц откладывается в отдельных парализованных личинках моли позднего возраста.

Чешуекрылые насекомые насчитывают огромное количество вредителей, таких как совки, огневки, моли и мотыльки, которые несут опасность для урожая в закрытом и открытом грунте, а также для хранимых продуктов. В этом списке находится около 60 видов различных насекомых, повреждающих злаковые, овощные, кормовые, плодовые и прочие культуры, в том числе виноградники.

Биологи на практике доказали, что для эффективной борьбы со многими видами вредоносных насекомых отряда чешуекрылых достаточно выпустить от 1000 до 3000 взрослых особей габробракона на 1 га посевов, чтобы полностью исключить потери урожая.

Габробракон нашел широкое применение в странах Средней Азии, где используется для борьбы с различными видами вредителей хлопчатника и овощных культур. В РСО - Алания габробракон стали размножать в ФГУ «ФГТ СТАЗР В РСО-А», руководителем которого является сотрудник Горского ГАУ Тотров О.В. В настоящее время ведутся активные полевые опыты по его использованию (на первых этапах исключительно для борьбы со стеблевым кукурузным мотыльком).

Данный вид наездников паразитирует на гусеницах совок, карандины, листоверток и различных чешуекрылых, поэтому использование габробракона в нашей стране весьма целесообразно и перспективно.

Контрольные вопросы

1. На каких насекомых паразитирует габробракон?
2. Сколько обработок необходимо делать и сколько штук энтомофага необходимо выпускать?
3. Каков характер поражения энтомофага?
4. Какие факторы внешней среды влияют на плодовитость энтомофага?

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 13.

Методика массового разведения фитосейулюса

Цель занятия: ознакомление с особенностями массового разведения фитосейулюса. Определить целесообразность использования акарифага в тепличных условиях. Ответить на вопросы.

Учебные материалы: учебные пособия: «Биологическая защита растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений».

При разведении хищных клещей существуют свои особенности, связанные с элементами технологического процесса: подбор растения для питания фитофага – подбор хозяина для наиболее успешного питания и размножения энтомофага (на примере фитосейулюса). Для многих видов разработаны регламенты их наработки и применения на различных культурах, выращиваемых в условиях закрытого грунта.

К настоящему времени накоплены определенные знания по использованию гербифагов для успешного контроля численности сорных растений. Однако их успешное разведение и применение связано со значительными материальными затратами и времени, что требует дальнейшего совершенствования технологии массового разведения.

Массовое разведение фитосейулюса в инсектариях или теплице заключается в том, что хищного клеща накапливают на зелёных растениях, на которых размножают паутиных клещей. Хищника разводят в теплицах, где поддерживается повышенная влажность воздуха 70-85 °С и температура 260-280 °С, в отличие от паутиных клещей, для которых относительная влажность воздуха должна быть 35-55 и температура 250-300 °С (Чалков А.А., 1986). Сама технология размножения фитосейулюса состоит из таких основных этапов: выращивание кормовых растений, заражение паутиным клещом, заселение хищником, сбор растений с фитосейулюсом. Практика показала, что наиболее целесообразно для этой цели использовать

производственные теплицы. Для размножения паутинных клещей лучшим растением является соя, но можно использовать фасоль, кормовые бобы, кукурузу. При естественном длинном освещении в условиях теплиц растения сои быстро наращивают листовую поверхность, служат хорошим кормом для вредителя, выдерживают его высокую плотность и продолжительное время могут храниться в условиях пониженных положительных температур.

При появлении 3-5 настоящих листьев их заселяют паутинными клещами из расчёта 40-50 особей на одно растение. Серьёзная трудность, возникающая при массовом разведении хищного клеща - преждевременное самопроизвольное заселение растений акарифагом. В этом случае фитосейулюс быстро уничтожает ещё не успевшего размножиться в достаточном количестве паутинного клеща и, не достигая высокой численности из-за недостатка пищи, разбегается. Поэтому при разведении хищных и паутинных клещей необходимо соблюдать меры предосторожности, направленные на предупреждение неконтролируемого распространения клещей.

Через 14-15 дней после выпуска паутинного клеща растение заселяют фитосейулюсом из расчёта 10 самок или нимф на одно растение.

Ещё через 14-20 дней собирают листья с накопившимися на них хищными клещами при соотношении хищника и жертвы 1:1. Применение этого способа сопряжено с рядом трудностей. Обладая высокой поисковой способностью, акарифаг быстро распространяется по разводочной теплице, преждевременно заселяет растения с паутинным клещом даже на хорошо изолированных стеллажах.

Максимальное количество хищного клеща удается получить лишь на начальном этапе его разведения. Затем в результате расселения и заселения им колоний паутинного клеща снижаются исходная плотность жертвы на растениях и выход фитосейулюса в разводочной теплице.



Хищный клещ фитосейулюс может храниться длительное время в состоянии оцепенения при пониженной температуре и высокой относительной влажности воздуха. Для хранения фитосейулюса наиболее благоприятна температура 3 °С в сочетании с относительной влажностью воздуха 90-98. Лучше всего сохраняются самки. Молодь и яйца погибают очень быстро. Однако при кратковременном хранении 5-7 дней хищные клещи хорошо сохраняются во всех фазах своего развития. При хранении в оптимальных условиях в течение 30-35 дней выживает в среднем 80 молодых самок.

При увеличении периода хранения до 45 дней выживает не более 35 клещей. Хранение в течение 60 дней выдерживают лишь единичные особи. Желательно хранить хищников не более 10-15 дней. При использовании фитосейулюса, длительно хранившегося в холодильнике, фактические нормы выпуска необходимо определять с учетом процента его гибели. Хранить клещей следует непосредственно на тех листьях, с которыми они собраны.

Лучше всего хищные клещи сохраняются на листьях сои, значительно хуже на листьях фасоли и огурца, еще менее пригодны для хранения хищника листья бобов и кукурузы. Листья или растения с хищными клещами удобно хранить в широкогорлых стеклянных сосудах. Для транспортировки более удобны мешочки или легкие картонные коробки. Листья складывают в соответствующую емкость рыхлым слоем с тем, чтобы не раздавить клещей и их яйца, затем посуду помещают в условия пониженной температуры.

По мере надобности листья с хищными клещами извлекают из холодильника и раскладывают на растения для массового разведения в разводочной теплице или для борьбы с паутинными клещами в производственных теплицах. Хищные клещи, извлеченные из холодильника, при температуре 10 С и выше очень быстро активизируются и продолжают свою нормальную жизнедеятельность. Листья с хищными клещами необходимо оберегать от действия прямых солнечных лучей.

Массовый способ разведения хищного клеща в садках.

Экспериментально-производственная проверка показала, что одним из перспективных методов разведения хищного клеща является размножение его не в теплицах, как при традиционном способе, а на срезанных растениях с накопившимся паутинным клещом в ящиках,

компактно размещенных на стеллажах в пространственно изолированном помещении с регулируемой температурой 22-24 С. Это позволяет исключить попадание хищного клеща в теплицу, где размножается паутинный клещ, и предотвратить срыв непрерывного накопления пищи для фитосейулюса, а также поддерживать температуру, благоприятную для размножения последнего.

В день обследования в очаги выпускают хищника из расчета от 15 до 60 взрослых клещей и нимф на одно растение в зависимости от возраста огурцов и степени заселенности их паутинным клещом. Для этого срезанные в разводочной теплице растения с фитосейулюсом укладывают в термосы или картонные коробки и переносят в теплицы, где предполагается выпуск акарифага. При использовании картонных коробок для транспортировки фитосейулюса важно учитывать, что в солнечные дни даже кратковременное их нагревание побуждает хищника к миграции.

В результате этого значительная часть акарифага расползается по внутренней и внешней поверхности коробок и утрачивается.

Как правило, выпущенный в теплицы, фитосейулюс полностью уничтожает паутинного клеща на заселенных растениях в течение 2-10 дней и предупреждает его распространение по теплице. После уничтожения вредителя фитосейулюс расселяется в поисках пищи. Однако даже через 4-5 дней после подавления очагов паутинного клеща на листьях можно обнаружить личинок акарифага, которые в случае вторичного заселения растений могут контролировать размножение вредителя, а следовательно, обеспечивать защитный эффект в течение недели. Наиболее интенсивная миграция хищника происходит обычно в пределах смежных грядок.

При использовании фитосейулюса необходимо учитывать, что в теплицах, в которых поврежденные вредителем растения обнаруживаются с большим опозданием, а распространение паутинного клеща приобретает диффузный характер, эффективное применение биологического метода способом локальной колонизации весьма затруднительно и требует большого количества биологического материала. В весенне-летний период при сильном развитии листовой поверхности растений диффузное распространение паутинного клеща в начальный период носит скрытый характер и даже при самом внимательном обследовании не улавливается. В последующем численность

очагов в этих теплицах быстро нарастает. Обычно диффузному распространению вредителя предшествует появление в теплицах единичных растений с высокой плотностью паутинового клеща, которые могут служить сигналом массового расселения фитофага, даже если в данный период зарегистрировано незначительное количество заселенных растений. При несвоевременном обнаружении вредителя в запущенных очагах применяют массовый выпуск фитосейулюса.

Суть этого приема заключается в том, что в отличие от локального способа здесь исключается необходимость систематических обследований теплиц, а выпуск осуществляется путем равномерного размещения срезанных листьев или растений сои, на которых накоплен акарифаг, по всей теплице. При этом в обнаруженные очаги фитосейулюса выпускают как и при локальном способе, а остальное количество его равномерно распределяется по растениям всей теплицы. Выпущенный хищник в поисках пищи концентрируется на заселенных вредителем растениях и подавляет его размножение. В этом случае нормы выпуска хищника определяют исходя из соотношения хищника и жертвы на заселенных вредителем листьях. В почвенных ангарных теплицах очаги быстро подавляются при соотношении 1:80. В гидропонных ангарных и крупных блочных стеклянных теплицах площадью от 10 до 30 тыс. метров высокой эффективности фитосейулюса можно добиться лишь увеличив норму его выпуска в 2-3 раза по сравнению с нормой мелких ангарных теплиц, то есть создав начальное соотношение хищник жертва в очагах размножения вредителя до 1:40 - 1:20. Для борьбы с паутиным клещом в парниках целесообразно проводить массовый выпуск фитосейулюса. Если очаги не запущены, то на одно рамо-место достаточно в среднем по 50 особей хищника, при сильном повреждении 3-4 балла - 100 особей. Срок защитного действия акарифага при этом 1,5-2 месяца. Однако необходимо учитывать, что при этом способе используется значительное количество биологического материала в ограниченный промежуток времени и поэтому требуется совершенная и надежная технология промышленного разведения фитосейулюса. При современном уровне технологии разведения акарифага наиболее приемлемым является сочетание локального и массового способов выпуска акарифага. Массовый способ колонизации нужно применять в тех случаях, когда использование локального выпуска не позволяет до-

биться положительного эффекта или достигается ценой использования большого количества хищного клеща, то есть выходит за рамки экономической целесообразности его применения. Накопленный опыт массовой колонизации хищника в производственных условиях свидетельствует о том, что его лучше проводить в профилактических целях, выпуск фитосейулюса без предварительных обследований теплиц и при обнаружении первых очагов вредителя, а также при диффузном его распространении.

Профилактический выпуск акарифага проводят через 3-4 недели после высадки растений огурца в грунт в зимних теплицах. К этому времени, как правило, в разводочной теплице накапливается значительное количество хищного клеща, а вредитель еще не обнаружен или численность его невелика, то есть в этот период создается определенный избыток акарифага. Если же в отдельных теплицах к этому времени выявлены очаги паутинового клеща, то в первую очередь в них выпускают хищника из расчета в среднем 40-60 особей на 1 м². По мере нарастания листовой поверхности растений до 35-40 листьев на одно растение эффективность этих норм выпуска не снижается, так как контакт между растениями как в пределах грядки, так и с растениями смежных грядок увеличивается, а следовательно, улучшаются и миграционные возможности акарифага. На растениях в фазу 45 листьев и более продолжительность защитного эффекта этих норм заметно снижается. В таких теплицах норму выпуска хищника увеличивают до 80-100 особей на 1 м², однако от исполнителей он требует высокой квалификации, что связано с необходимостью более точного контроля развития вредителя

Контрольные вопросы

1. Каковы особенности при разведении фитосейулюса?
2. Какие растения используются для разведения паутинового клеща?
3. Как зависит продолжительность хранения на выживаемость акарифага?
4. На чем лучше хранить акарифаг?
5. При несвоевременном обнаружении вредителя, какой способ выпуска акарифага используется, и как определяются нормы выпуска?
6. Укажите основные этапы при разведении фитосейулюса.

ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 14.

Методика массового разведения и применения златоглазки

Цель занятия: изучить технику выпусков златоглазки, ее колонизацию на растениях.

Учебные материалы: «Биологическая защита растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Биопрепараты в защите растений».

Златоглазки – хищные насекомые, питаются относительно мелкими, малоподвижными беспозвоночными, с мягкими покровами тела. Будучи многоядными, они, однако, отдают предпочтение насекомым из отряда равнокрылых (тли, хермесы, листоблошки, червцы, щитовки), яйцам и гусеницам некоторых видов бабочек и растительноядным клещам. Совместно с другими видами энтомофагов и акарифагов златоглазки существенно ограничивают численность многих вредителей растений и в связи с этим давно привлекли внимание исследователей в области биометода в разных странах мира.

Относительно высокая экологическая пластичность ряда видов златоглазок по отношению к стадиям обитания, пищевым потребностям и к лабораторным условиям разведения определили их перспективность как агентов биологической защиты сельскохозяйственных культур в закрытом грунте. В настоящее время возможности использования златоглазок в биометодике далеко не исчерпаны и информация по их диагностике, особенностям биологии и поведения, методам разведения и селекции является весьма полезной для специалистов, работающих в этой области сельскохозяйственного производства. Существует в природе несколько видов златоглазки: обыкновенная златоглазка (*Chrysopa carnea*), семиточечная златоглазка (*Chrysopa septempunctata*), златоглазка красивая (*Chrysopa Formosa*), златоглазка китайская (*Chrysopa sinica*).

Больше всего изучена обыкновенная златоглазка, которая давно и широко применяется для защиты различных культур как открыто-

го, так и закрытого грунта. Остальные же виды надо исследовать для дальнейшего применения. Отрицательный фактор при широкомасштабном использовании златоглазки - при существующих методах лабораторное разведение затруднено из-за его высокой стоимости и низкой производительности, но в последнее десятилетие разработано несколько схем механизации производства.

Обыкновенная златоглазка (Chrysopa carnea). Применяют в защищенном грунте для борьбы с тлями методом сезонной колонизации на стадии яйца или личинки 2-го возраста. Яйца энтомофага рассеивают на листья среднего яруса растений, в соотношении хищник: жертва 1:1. Норма выпуска личинок в среднем составляет 100-150 личинок на м² (зависит от вида растений и численности тлей). При расчете на плотность тли придерживаются соотношения хищник: жертва 1:5-1:10. Интервалы между выпусками - 7 дней. Выпуск личинок 2-го и 3-го возраста против гороховой тли и личинок колорадского жука в соотношении от 1:1 до 1:5.

На баклажанах против колорадского жука. Эффективными являются многократные выпуски личинок старших возрастов с интервалом в 8-10 дней в течение месяца, при соотношении хищник: жертва в пределах 1:20. Целесообразно применять в зонах, где колорадский жук дает 1-2 поколения.



Массовое размножение златогазки осуществляется в специально оборудованных помещениях биологической лаборатории. Техника выпусков златогазки не разработана. Поэтому колонизацию яиц приходится проводить вручную. Можно рекомендовать два способа.

1. Раскладка бумаги или ткани с отложенными на них яйцами златогазки.
2. Рассеивание яиц.

Первый способ не всегда приемлем, так как в случае недостаточного надежного закрепления на растениях бумага падает на почву и яйца, как правило, погибают. Кроме того, при таком способе колонизации яйца не касаются поверхности растений. Поэтому отродившиеся личинки сначала попадают на бумагу и уничтожают значительную часть яиц, из которых личинки еще не успели отродиться. Каннибализм среди личинок в данном случае - весьма частое явление.

Способ рассеивания яиц лишен этих недостатков: яйца распределяются сравнительно равномерно по растению, а отрождающиеся личинки быстро переходят на нижнюю сторону листа, где имеется пища. Такой способ колонизации яиц соответствует биологической особенности златогазки обыкновенной, заключающейся в откладывании одиночных яиц, и обеспечивает рассредоточение личинок, что уменьшает число случаев каннибализма. К сожалению, при рассеивании часть яиц попадает на почву и погибает в результате заболеваний или уничтожается муравьями и пауками.

Количество яиц, задерживающихся на растениях, в большой мере зависит от морфологических особенностей защищаемой культуры. Растения, имеющие гладкую поверхность листьев (например, капуста), необходимо предварительно слегка опрыскивать водой и лишь после этого заселять яйцами златогазки. Для огурцов, имеющих крупные опушенные и преимущественно горизонтально ориентированные листья, смачивание, как и любые другие приемы удерживания яиц, излишни. Строение и морфологические особенности растения сами по себе обеспечивают высокую удерживаемость яиц златогазки.

Подготовка яиц для колонизации и их транспортировка.

Одно-, двухдневные яйца, освобожденные с помощью раствора

гипохлорита от стебельков при сборе, помещают на 1-2 дня в термостат с температурой 23-24°C и 80% относительной влажности воздуха. За несколько часов до отрождения личинок, то есть на стадии потемнения эмбриона, яйца извлекают из термостата и используют по назначению. Яйца златогазки можно перевозить в пробирках, мелких стеклянных стаканчиках, склянках из-под антибиотиков и т. д. Для того чтобы устранить прилипание яиц к стенкам сосудов и обеспечить хорошую сыпучесть их следует добавлять небольшое количество (на кончике скальпеля) талька. Для рассеивания яиц на растения используют стеклянный или пластмассовый стаканчик, закрытый сеткой с ячейкой 0,8-0,9 мм. Яйца равномерно распределяются на листья среднего яруса для уменьшения воздействия прямых солнечных лучей, так как выживаемость яиц на верхних, освещенных солнцем листьях намного ниже.

Колонизация личинок.

Самым простым способом колонизации личинок является их «вытряхивание» из бумажных ячеистых вкладышей. Для выполнения этой операции легкой палочкой ударяют по бумажному ячеистому вкладышу с личинками, который удерживают на расстоянии 10-15 см от поверхности листьев. Личинки отделяются и в подавляющем большинстве падают на растения. В случае необходимости колонизации личинок из одного вкладыша в несколько очагов вкладыш помещают между двумя листами картона, оставляя открытыми необходимое количество рядков ячеек, из которых вытряхивают личинок.

В жаркий период колонизацию личинок следует проводить в вечерние часы (18-20 часов). При пасмурной погоде личинок можно выпускать в любое время дня.

Транспортировка личинок осуществляется чрезвычайно простым способом. Бумажные вкладыши с личинками, переложённые листами бумаги, упаковываются в пакеты. Для большей жесткости снизу и сверху пакет прикрывают листом картона или фанеры соответствующего размера. В один пакет берется до 20 вкладышей. Наиболее удобно транспортировать в хозяйства яйца златогазки и яйца ситотроги с тем, чтобы непосредственно на месте в теплице или другом подходящем помещении выращивать личинок хищника

до нужного возраста. В этом случае садок для содержания личинок может быть максимально упрощен. На стеклянную пластинку (240x260 мм) помещают лист бумаги, затем сверху - бумажный ячеистый вкладыш. В ячейку вкладыша рассеивают яйца златоглазки (по 2 яйца на ячейку), затем яйца ситотроги (примерно 800 мг на вкладыш) и закрывают стеклом. Поверх этого стекла снова помещают лист бумаги, ячеистый вкладыш, а затем рассеивают яйца хищника и корм и закрывают стеклом. Чередую стекла и вкладыши, в одной партии укладывают 10 садков. Отрождающиеся личинки энтомофага питаются яйцами ситотроги.

Сроки выпусков златоглазки определяются прежде всего особенностями фенологии и биологии вредителей, которых можно условно разделить на две группы:

1. Вредители с относительно коротким периодом развития, с большим числом поколений и высокими темпами размножения. Сюда относятся тли, трипсы, многие кокциды.

2. Вредители с продолжительным периодом развития, дающие за сезон 1-3 поколения. К этой группе можно отнести совок, белянок и других чешуекрылых, колорадского жука и т. д.

Сроки выпусков златоглазки против вредителей первой группы определяются численностью насекомых в очагах. Наиболее целесообразны выпуски в период обнаружения первых очагов зараженных растений, при невысокой численности вредителей: например, тлей - не более 150, трипсов - 5-10 особей на одно растение огурца, баклажана, томатов. Против вредителей второй группы колонизацию златоглазки следует проводить в период появления насекомых в фазах, уязвимых для хищника (яйца, гусеницы и личинки младших возрастов).

Нормы колонизации хищника обуславливаются многими факторами (фазой развития и активностью хищника, различной прожорливостью личинок в зависимости от возраста, реакцией энтомофага на окружающую среду, особенностями проявления каннибализма, особенностями защищаемой культуры и т. д.). Таким образом, эффективность различных сроков, норм и кратностей колонизации златоглазки зависит от ряда факторов и прежде всего от особенностей биологии вредителя, против которого применяется энтомофаг.

Контрольные вопросы

1. Каких вредителей уничтожает златоглазка?
2. Какие способы выпуска златоглазки Вы знаете?
3. Какая техника транспортировки яиц?
4. Способ колонизации личинок златоглазки?
5. Способ транспортировки личинок?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Алборова П.В., Козырев А.Х. Роль биопрепаратов на основе ассоциативных ризобактерий в повышении болезнеустойчивости растений донника желтого. /Материалы Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в растениеводстве и экологии», Владикавказ. 2017. С 18-20.

2. Загоскина Н.В. Биотехнология: Состояние и перспективы / Н. В. Загоскина, Л. В. Назаренко, Е. А. Калашникова, Е. А. Живухина. – М.: Оникс, 2009. – 496 с.

3. Сельскохозяйственная биотехнология / Под. ред. Шевелухи В. С. – М. – Высшая школа, 2008. – 710 с.

4. Сельскохозяйственная биотехнология/Под. ред. Шевелухи В. С. – М. – Высшая школа, 2003. – 469 с.

5. Бабенко А. С. Энтомофаги в защите растений: учеб. пособие / А. С. Бабенко, М. В. Штерншис, И. В. Андреева, О. Г. Томилова, В. А. Коробов. – Новосибирск, 2001. – 205 с.

6. Биологическая защита растений: учеб./М. В. Штерншис, Ф. С. Джалилов, И. В. Андреева, О. Г. Томилова. – М.: КолосС, 2004. – 264 с.

7. Биопрепараты в защите растений. Учеб. пособие /М. В. Штерншис, Ф. С. Джалилов, И. В. Андреева, О. Г. Томилова. – Новосибирск, 2003. – 142 с.

8. Биотехнология в защите растений: учеб. Пособие / М. В. Штерншис, О. Г. Томилова, И. В. Андреева. – Новосибирск, 2006. – 199 с.

9. Леднев Г.Р. Возбудители микозов насекомых: пособие по диагностике. / Г. Р. Леднев, Б. А. Борисов, Г. В. Митина. – СПб., 2003. – 79 с.

10. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты/под ред. В. В. Глупова. – М.: Круглый год, 2001. – 763 с.

11. Материалы всероссийских и международных конференций по биологической защите растений (ВНИИ биол. защиты растений, Краснодар, с 2000 по настоящее время.

12. Фарниев А.Т., Калицева Д.Т., Сабанова А.А., Алборова П.В. / Методическое руководство к лабораторно-практическим занятиям по микробиологии (для студентов агрономического факультета) /Изд-во Горский госагроуниверситет. – Владикавказ, 2003.

13. Biologizing technologies for crops cultivation (Биологизация технологий возделывания с.-х. культур)/ А.Т. Farniev, А.Кh. Kozyrev, А.А. Sabanova, P.V. Alborova/ Info Ameriran jonal of pharmaceutical sciences. IAJPS 2019, 06 (05), p. 8956-8962. (Web of science).

14. Ханаева, Д.К. Фитопатология / Д. К. Ханаева, Л. М. Базаева, П. В. Алборова. – Владикавказ : Горский ГАУ, 2021. – 32 с. – EDN JJFYUY.

15. Базаева Л.М. Энтомология / Л. М. Базаева, Д. К. Ханаева, П. В. Алборова. – Владикавказ : Горский ГАУ, 2021. – 36 с. – EDN JJFYUY.

16. Алборова П.В. Экология / П.В. Алборова, А.Х. Козырев, Л.М. Базаева, Д.К. Ханаева. – Владикавказ : Горский ГАУ, 2021. – 60 с. – EDN QOVQBM.

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 1. Микробные биопрепараты для защиты растений (грибные, бактериальные, вирусные)	5
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 2. Технологии производства бактериальных препаратов.	9
ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3. Определение эффективности бактериальных препаратов в лабораторных условиях (ЛК50). ...	13
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 4. Особенности получения энтомопатогенных препаратов на основе нематод и микроспоридий для защиты растений	15
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 5. Бактериальные препараты против грызунов.	19
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 6. Методика определения эффективности грибных препаратов для защиты растений	22
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 7. Методика применения грибного биопрепарата «Фитоверм»	25
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 8. Особенности использования вирусных препаратов	27
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 9. Производство антибиотиков, биологически активных веществ насекомых и их синтетических аналогов для защиты растений	32
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 10. Способы биологической регуляции насекомых	38
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 11. Массовое разведение насекомых на примере трихограммы	42
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 12. Технология применения газобракана (занятие планируется провести в ФГУ «ФГТ СТАЗР В РСО-А»)	47
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 13. Методика массового разведения фитосейюлуса	51
ЛАБОРАТОРНОЕ ЗАНЯТИЕ 14. Методика массового разведения и применения златоглазки	58
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	64

б б б

б б б

Лицензия: ЛР. № 020574 от 6 мая 1998 г.

Электронная версия 18.05.2022 г.
Бумага формат А4 (210х297) масса 80 г/м².
Усл. печ. л. 4,25. Заказ 40.

362040, Владикавказ, ул. Кирова, 37.

Типография ФГБОУ ВО «Горский госагроуниверситет»

Ж Ж Ж

П.В. АЛБОРОВА, А.Х. КОЗЫРЕВ,
Л.М. БАЗАЕВА, Д.К. ХАНАЕВА

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Учебно-методическое пособие
для лабораторных занятий для студентов
агрономического факультета по направлению
подготовки 35.03.04 - Агрономия и
35.03.05 – Садоводство

Ж Ж Ж