Защита картофеля

№4, 2017

ISSN 2221-2396

Научно-практический журнал, выходит с 2010 года

Главный редактор:
С.Н. Еланский, *д.б.н., МГУ им. М.В. Ломоносова*

Редколлегия:
Б.В. Анисимов, *к.б.н., ВНИИКХ*
В.Н. Зейрук, *д.с.-х. н., ВНИИКХ*
А.Н. Игнатов, *д.б.н., ООО "ИЦ Фитоинженерия"*
Л.Ю. Кокаева, *к.б.н., МГУ им. М.В. Ломоносова*
М.А. Кузнецова, *к.б.н., ВНИИ фитопатологии*
А.В. Николаев, *к.с.-х.н., Костромской НИИСХ*
К.А. Пшеченков, *д.с.-х. н., ВНИИКХ*
Е.А. Симаков, *д.с.-х. н., ВНИИКХ*
А.Н. Смирнов, *д.б.н., РГАУ-МСХА*
З.А. Сташевски, *к.б.н., Татарский НИИСХ*
М.Э. Тальянский, *professor, The James Hutton Institute, Dundee, United Kingdom*
А.В. Филиппов, *к.б.н., ВНИИ фитопатологии*

Выпускающий редактор:
Е.М. Чудинова, *к.б.н.*

© Редакция журнала "Защита картофеля", 2017

Содержание

Биологическая защита меристемного семенного картофеля от вредителей – переносчиков вирусов в закрытом грунте 3
В.Н. Зейрук, Н.А. Белякова, Г.Л. Белов, С.В. Васильева, М.К. Деревягина, Г.В. Митина

Влияние микробиологических удобрений на продуктивность и качество картофеля 13
Л.С. Федотова, Н.А. Тимошина, Е.В. Князева, Н.И. Аканова, М.М. Визирская

Технология посадки картофеля 22
К.А. Пшеченков, С.В. Мальцев, А.В. Смирнов

Виды рода *Alternaria* и *Colletotrichum coccodes* в листьях картофеля в Европейской части России 27
Л.Ю. Кокаева, Г.Л. Белов, А.Ф Белосохов, И.А. Кутузова, Е.М. Чудинова, С.Н. Еланский

Новая технология хранения и реализации биологического материала грибов 33
А.Ф. Белосохов, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, А.Б. Комаров

E-mail: *zakartofel@gmail.com*
Сайт: *http://www.kartofel.org*
РИНЦ: *http://elibrary.ru/title_about.asp?id=51602*

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (свидетельство ПИ № ФС 77-67959 от 13.12.2016). При перепечатке ссылка обязательна. Тираж 300 экз. Подписано в печать: 15.12.2017 г.

Выходит 4 раза в год

Contents

Biological protection of nuclear seed potato from pests – vectors of viruses in greenhouses 3
V.N. Zeyruk, N.A. Belyakova, G.L. Belov, S.V. Vasilyeva, M.K. Derevyagina, G.V. Mitina

Influence of microbiological fertilizers on productivity and quality of potatoes 13
L.S. Fedotova, N.A. Timoshina, E.V. Knyazeva, N. I. Akanova, M.M. Vizirskaya

Technology of potato planting 22
K. A. Pshechenkov, S.V. Maltsev, A.V. Smirnov

***Alternaria* species and *Colletotrichum coccodes* in potato leaves in European part of Russia** 27
L.Y. Kokaeva, G.L. Belov, A.F. Belosokhov, I.A. Kutuzova, E.M. Chudinova, S.N. Elansky

New technology of storage and implementation of fungal biological material 33
A.F. Belosokhov, L.Y. Kokaeva, S.N. Elansky , A.B. Komarov

Биологическая защита меристемного семенного картофеля от вредителей – переносчиков вирусов в закрытом грунте

В.Н. Зейрук[1], Н.А. Белякова[2], Г.Л. Белов[1], С.В. Васильева[1], М.К. Деревягина[1], Г.В. Митина[2]

[1] ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий район, п. Красково, ул. Лорха, д. 23.
[2] ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

Аннотация

В статье приведены результаты многолетнего мониторинга (2003-2017 гг.) переносчиков вирусной инфекции (тли и цикадки) как в открытом, так и в закрытом грунте в различных районах Московской области. Одна из задач иследования – сравнение биологической эффективности биологического препарата Вертициллин, созданного на основе отобранного штамма энтомопатогенного гриба рода Lecanicillium и химического инсектицида Актара. Опыты проводили на меристемных растениях картофеля среднеспелого сорта Фиолетовый. Проведенный мониторинг показал, что если в 2003 году было отловлено 116 особей зеленой персиковой тли (26,1% от общего числа тлей), то в 2005 и 2007 годах их оказалось лишь 58 и 54 штуки (50% и 49,5% соответственно). В последующие годы по динамике лета и распространенности одно из лидирующих мест занимала персиковая тля в открытом и закрытом грунте. После проведенных обработок общая численность тлей на варианте с применением препарата Вертициллин находилась на уровне варианта с применением химического препарата Актара и была существенно (в 46-100 раз) ниже численности вредителей на контрольном варианте даже через три недели после проведения обработки. Доминирующим видом энтомофагов на притепличной территории оказался афидиус (имаго), наименее часто встречались мухи-сирфиды.

Ключевые слова: *меристемный картофель, тля, биопрепараты, мониторинг переносчиков вирусов, фитофаги, энтомофаги*

Для ссылки: *Зейрук В.Н., Белякова Н.А., Белов Г.Л., Васильева С.В., Деревягина М.К., Митина Г.В. Биологическая защита меристемного семенного картофеля от вредителей – переносчиков вирусов в закрытом грунте // Защита картофеля. – 2017. – №4. – С. 3-11.*

Получение безвирусного семенного материала картофеля является одной из основных задач семеноводства этой культуры не только в России, но и во всем мире. Защищенный грунт широко используется при крупномасштабном круглогодичном производстве элитного безвирусного картофеля. В настоящее время на территории РФ происходит расширение площади посадок картофеля в защищенном грунте с использованием в основном современных технологий безвирусного семеноводства. Многолетний опыт тепличного растениеводства свидетельствует о том, что индустриальные теплицы заселяются вредителями в течение первых 5–12 месяцев после ввода в эксплуатацию, несмотря на изоляцию и регулярные мероприятия по дезинфекции в период между оборотами. Усложняет ситуацию крайняя нестабильность тепличных агроценозов. При попадании даже единичных особей вредителей существует угроза вспышек их размножения на фоне оптимальных климатических условий, искусственно поддерживаемых в теплицах (Павлюшин и др, 2001, 2006; Яркулов, Белякова, 2007; Белякова, 2014, 2016).

Вирусные болезни могут распространяться контактно, почвенными грибами и свободноживущими нематодами, но перенос большинства вредоносных вирусов картофеля происходит с помощью тлей. Тли угнетают рост и развитие растений, вызывают скручивание листьев, и, как следствие, уменьшение урожая клубней на 15-35%. Кроме того, они являются переносчиками опасных вирусных заболеваний, в том числе таких, как полосчатая и морщинистая мозаики. Насекомое получает инфекцию как из эпидермальных, так и из флоэмных тканей больных растений. Время заражения составляет несколько секунд, при этом одна тля может заразить своим стилетом с находящейся в нем инфекцией более десятка здоровых растений. Основную долю в суммарной векторной активности

Автор для переписки: В.Н. Зейрук
E-mail: vzeyruk@mail.ru

составляет персиковая тля *Myzus persicae* Sulzer. Менее значимыми являются крушинная *Aphis nasturtii* Kalten., крушинниковая *Aphis frangulae* Kalten., обыкновенная картофельная *Aulacorthum solani* Kalten., большая картофельная *Macrosiphum euphorbiae* Thomas и бобовая *Aphis fabae* Scopoli тли (Анисимов и др., 2009, 2010). Кроме того, вирусы на картофеле способны переносить гороховая *Acyrthosiphon pisum* Harr., гелихризовая *Brachycaudus helichrysi* Kalt., хмелевая *Phorodon humuli* Schrk. и черемухово-злаковая *Rhopalosiphum padi* L. тли (Дьяконов, 1971, 2000; Берим, 1999, 2002, 2017).

В семеноводстве картофеля необходимо контролировать процесс миграции, видовой состав и резкое увеличение численности крылатых особей тлей, максимально уменьшать контакт рабочих органов с/х техники и персонала с растениями и тщательно применять комплекс агротехнических мероприятий. Также необходимо регулярно проводить профилактические обработки системными инсектицидами против тлей в течение всего периода вегетации культуры (Сухорученко и др., 2013), направленные на уменьшение повторного инфицирования здорового семенного материала вирусами в условиях открытого грунта.

Для решения проблем фитосанитарии и экологии в защите растений необходимо использовать наименее токсичные для человека, флоры и фауны, избирательные и быстро разлагаемые в природе вещества. Альтернативой химическим пестицидам могут стать препараты на основе микроорганизмов и их метаболитов, а также других природных соединений (Павлюшин, 2005; Штерншис, 2012; Новикова, 2016). Однако несмотря на эффективность и экологическую безопасность биопрепаратов, объем их применения составляет всего 1–1,5% от рынка химических пестицидов. Очевидно, что одним из наиболее перспективных и актуальных направлений научных исследований в сельскохозяйственной биотехнологии является разработка новых полифункциональных микробиологических препаратов и технологий их применения.

Назрела необходимость создания экологически безопасной системы биологической защиты картофеля от насекомых-переносчиков вирусов в теплицах. Построение системы защиты невозможно без анализа механизмов биоценотической регуляции в искусственных экосистемах и оценки адаптаций насекомых-энтомофагов к современным технологиям тепличного растениеводства. Критерии отбора видов и популяций, а также отработка технологий их совместного применения с препаратами разного фитосанитарного назначения в составе системы защиты растений, должны основываться на анализе жизненных стратегий энтомофагов, реализующихся в условиях индустриальных теплиц, и выявлении адаптивных механизмов, за счет которых эти стратегии осуществляются.

Целью наших исследований являлась оценка биологической эффективности тестируемых образцов биопрепаратов на основе отобранного штамма грибов рода *Lecanicillium* в отношении сосущих вредителей – переносчиков вирусов (зеленая персиковая, крушинная, обыкновенная картофельная и другие виды тлей и др.) на культуре меристемного семенного картофеля в теплицах Московской области.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по изучению препаратов проводили в марлево-пленочных изоляторах (туннелях) СПК «Агрофирма Элитный картофель» (п. Заворово, Раменский р-н, Московская область) (рис 1).

Почва участка проведения исследований дерново-подзолистая суглинистая, обладает слабокислой обменной кислотностью (pH_{KCl} = 4,9 и 5,53 для двух взятых на участке образцов соответственно) и высокой гидролитической кислотностью (Нг = 3,4 и 3,88 мг-экв/100г почвы); высокой суммой поглощенных оснований и степенью насыщенности ими (S = 11,6 и 12,2 мг-экв/100г почвы; V =74,9 и 78,2 %); низким содержанием подвижного фосфора (80 и 133 мг/кг почвы) и ниже среднего содержания обменного калия (115 и

Рис. 1. Внутренний вид марлево - пленочного изолятора (туннеля) с сосудом Мерике

Таблица 1. Агрохимическая характеристика почвы опытного участка (усредненные данные)

Год	pH_{KCl}	Нг	S	Сумма $N\text{-}NO_3$ $N\text{-}NH_4$	P_2O_5	K_2O	V	Гумус
		мг-экв /100 г почвы		мг/кг почвы	мг/кг почвы (по Кирсанову)		%	
2017	5,2	3,6	11,9	24,4	106,5	125	76,6	1,9

Рис. 2. Общая численность на одну ловушку в 1969 г. 2024 штуки

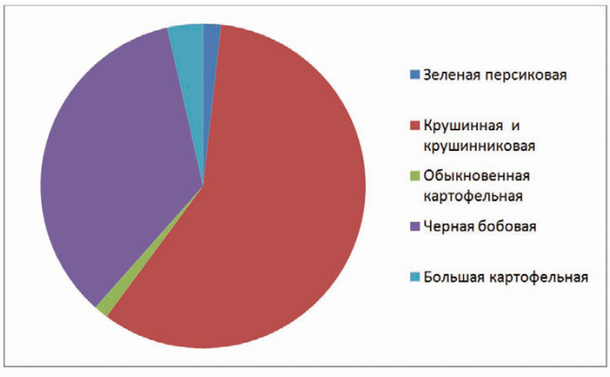

Рис. 3. Общая численность на одну ловушку в 1970 г. 278 штук

Рис. 4. Общая численность на одну ловушку в 1971 г. 297 штук

135 мг/кг почвы); относительно низкой гумусированностью (1,9 и 2,03 % гумуса) (табл. 1).

В исследованиях использовали биопрепарат Вертициллин. Препаративная форма представляет собой жидкий концентрат биомассы и спор энтомопатогенного гриба *Lecanicillium muscarium* (=*Verticillium lecanii*) штамм Vl-72 с титром спор около 10^9 спор/мл;

В качестве химического контроля использовали препарат Актара (ВДГ (250 г/кг тиаметоксам) – инсектицид из группы неоникотиноидов, эффективный против широкого спектра вредителей как при почвенном внесении, так и при наземных опрыскиваниях.

Картофель сорта Фиолетовый – среднеспелый,

Рис. 5. Опрыскивание растений изучаемыми препаратами

диетического питания. Урожайность 12-25 т/га. Сорт устойчив к раку картофеля, ризоктониозу, парше обыкновенной. По данным оригинатора (ФГБНУ ВНИИКХ), относительно устойчив к возбудителю фитофтороза по листьям и клубням, морщинистой и полосчатой мозаике, скручиванию листьев.

Уход за растениями:

— пикировка меристемных растений – вручную в период с 10 мая по 8 июня.

— подкормки 19, 22, 27 июня – препаратами Грин-Го, Яро Мила.

— обработка пестицидами от фитофтороза и альтернариоза: 1-4-я обработки – системным фунгицидом Ридомил Голд 2,0 кг/га; 5, 6-я обработки – контактным фунгицидом Манкодим 2,0 кг/га; от вредителей – согласно схеме опыта.

— уборка урожая – вручную 1-10 августа.

Первую обработку растений картофеля препаратом Вертициллин на опытных делянках провели 06.07.2017. На момент проведения обработки среднесуточная температура воздуха составляла 22,3°С, относительная влажность воздуха – 73,3%. Вторую обработку проводили 13.07.2017. Среднесуточная температура воздуха была 18°С, относительная влажность – 100,0%.

Для мониторинга тлей использовали желтые чашки (сосуды Мёрике) и метод «100 листьев». Количество тлей, пойманных в желтые чашки, служит показателем интенсивности активного лета и численности популяции в данной местности. Метод 100 листьев позволяет определить заселенность растений бескрылыми тлями и на их основе принять решение о целесообразности химической борьбы с ними. Он заключается в подсчете среднего количества взрослых бескрылый особей на один лист. В утренние часы срезали 100 листьев со 100 растений, взятых без выбора по диагонали опытного участка. Листья складывали в пакеты.

Таблица 2. Динамика лета и видовой состав крылатых тлей-переносчиков вирусов, поле ВНИИКХ

Название (вид) тлей	2003 г.		2005 г.		2007 г.	
	Шт.	%	Шт.	%	Шт.	%
Зеленая персиковая	116	26,1	58	50,0	54	49,5
Крушинная	35	7,9	6	5,2	4	3,7
Обыкновенная картофельная	9	2,0	5	4,3	3	2,6
Черная бобовая	230	51,7	32	27,6	36	33,0
Большая картофельная	16	3,5	5	4,3	5	4,8
Гороховая	39	8,8	10	8,6	7	6,4
Всего:	445	100,0	116	100,0	109	100,0

Подсчет и определение тлей производили немедленно после сбора (на свежих листьях) в лабораторных условиях с помощью бинокулярной лупы.

Учет тлей на листьях проводили используя шкалу, разработанную А.Г. Зыкиным (1970), характеризующую численность вредителя: низкая – до 100 особей на 100 листьев, от 100 до 300 – относительно низкая, 300-500 – средняя, высокая – 800-1500, очень высокая – свыше 1500.

Площадь опытных делянок: в теплице ~25 м^2 (100 растений картофеля), повторность трёхкратная. Размещение опытных делянок рендомизированное.

Опрыскивание растений на опытных делянках проводили ранцевой аппаратурой «KWAZAR» с нормой расхода рабочей жидкости из расчета 300 л/га (рис. 2).

Опыт проводили в соответствии со стандартными методиками, изложенными в следующих изданиях: «Методика исследований по культуре картофеля» (1967); «Методические указания по государственным испытаниям фунгицидов, антибиотиков и протравителей семян сельскохозяйственных культур» (1965); «Методика исследований по защите картофеля от болезней, вредителей, сорняков и иммунитету» (1995); «Методика физиолого-биохимических исследований картофеля» (1999); «Методические указания по проведению регистрационных испытаний агрохимикатов и регуляторов роста растений» (2005); «Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве (2004); ГОСТ Р53136-2008 «Картофель семенной. Технические условия»; ГОСТ Р55329-2012 «Картофель семенной. Приемка и методы анализа».

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом дисперсионного анализа (Доспехов, 1985).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В условиях Московской области наблюдения за динамикой основных векторов вирусных патологий во ВНИИ картофельного хозяйства проводятся с 70-х годов прошлого столетия. В работах многих исследователей проведен анализ мобильности переносчиков, определен их видовой состав и критический порог вредоносности (Клейменов, 1972; Зыкин, 1968, 1970; Абашкин, 2003; Зейрук и др., 2008). Динамика лета и видовой состав крылатых тлей-переносчиков вирусов в 1969-1971 гг представлены на рисунках 2-4.

Изучение видового состава переносчиков вирусов на картофеле за последнее десятилетие отражает варьирование их численности, приводя к существенному изменению удельного веса каждого вида. В вегетационный период 2003 г. были идентифицированы 445 особей переносчиков вирусной инфекции (табл. 2). Наиболее распространенными видами тлей оказались бобовая (51,7%) и зеленая персиковая (26,1%). В 2005 г. преобладание данных особей сохранилось, только их встречаемость составила 27,6% для бобовой и 50,0% для зеленой персиковой тли.

Анализ данных, приведенных в таблице 2, показывает, что в 2003 г. на одну ловушку Мерике было отловлено 116 особей зеленой персиковой тли (26,1% от общего количества отловленных тлей). В условиях 2005 г. количество идентифицированных особей данного вида уменьшилось до 58 шт., однако их доля возросла до 50%, а в 2007 году, соответственно, 54 шт. и 49,5%. Таким образом, если в 2003 г. каждая четвертая идентифицированная особь составляла зеленую персиковую тлю, то в 2005 г. и в 2007 г. она оказалась каждой второй.

Таблица 3. Динамика лёта и распространения тлей. Поле ГНУ ВНИИКХ, 2011 г.

Фаунистический сбор, вид	Численность собранных особей	
	экземпляров	к общей численности, %
Бахчевая	87	20,3
Бобовая	123	28,7
Большая картофельная	63	14,7
Обыкновенная картофельная	54	12,6
Крушинная	12	2,8
Персиковая	90	20,9
Всего	429	100,0

Таблица 4. Динамика распространения и численности тли на растениях картофеля. Поле ГНУ ВНИИКХ, 2012 г.

Показатели численности	Сроки учетов						
	начало всходов	полные всходы	начало бутониза-ции	полная бутониза-ция	начало цвете-ния	полное цвете-ние	начало отмирания ботвы
Экз./сосуд Мерике	25-50	55-60	64-70	60-75	0	0	0
Экз./100 листьев	0	0	10-12	12-23	25-33	10-12	0

Таблица 5. Динамика лёта и распространения тлей, поле ГНУ ВНИИКХ, 2012 г.

Вид	Время лёта, число тлей в пересчёте на ловушку								
	Июнь			Июль			Август		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Тля бахчевая = Тля хлопковая	–	1	19	7	3	1	–	–	–
Тля бобовая = свекловичная	9	31	25	14	10	7	–	–	–
Тля большая картофельная	–	6	2	1	2	–	–	–	–
Тля обыкновенная картофельная	–	1	4	2	1	–	–	–	–
Тля крушинная	–	6	2	1	1	–	–	–	–
Тля крушинниковая	–	2	1	–	1	–	–	–	–
Тля персиковая = Тля оранжерейная	–	14	18	22	7	–	–	–	–

Таблица 6. Расселение тлей на листьях картофеля Поле ГНУ ВНИИКХ, 2012 г.

Вид	Время обнаружения тлей на листьях картофеля, в пересчёте на 1 лист. Данные по декадам								
	Июнь			Июль			Август		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
Тля крушинная	–	–	0,03	–	–	–	–	–	–
Тля **персиковая** = Тля оранжерейная	–	–	0,06	0,27	0,21	0,03	–	–	–

В 2011-2012 гг. в Московской области тли также имели широкое распространение. Нарастание численности крылатых тлей на базовом поле шло постепенно, достигнув максимума в фазе «начало бутонизации» (от 64 до 70 особей на сосуд Мёрике). Заселение растений бескрылыми тлями было неравномерным: от 6 до 26% листьев и численность от 10 до 33 особей на 100 листьев, причем преобладали бобовая, персиковая и бахчевая тли. Деформирования долей листа не наблюдалось (табл. 3-6).

В 2014 и 2015 гг. мониторинг лета тлей проводили на экспериментальных базах ФГБНУ ВНИИКХ: «Коренево» Люберецкого района и «Пышлицы» Шатурского района Московской области (Юрлова и др., 2016). По результатам проведенного мониторинга переносчиков вирусов картофеля получены следующие данные (табл. 7). Начало лета тлей в агроклиматических условиях Московской области наблюдается в 3-ей декаде июня – 1-ой декаде июля. Наиболее интенсивный лет тлей отмечен в условиях выращивания картофеля на экспериментальной базе «Коренево», особенно в 2015 году. Интенсивный лет тлей выше порога вредоносности более чем в три раза наблюдался уже в первых декадах июля: 1-ая декада – 163,6 и 2-ая декада 176,2 особи, в т.ч. зеленая персиковая тля – 27 и 61 особь. В условиях экспериментальной

Таблица 7. Динамика лета и видовой состав крылатых тлей-переносчиков вирусов

Название (вид) тлей	Количество тлей (особей) *– III декада июня - I декада августа	
	2014 год	2015 год
Экспериментальная база «Коренево», Московская обл.		
Зеленая персиковая	41	114
Крушинная и крушинниковая	34,8	203,2
Обыкновенная картофельная	3,1	65,6
Черная бобовая	5,4	54,7
Большая картофельная	0,6	1,4
Цикадки	15	312
Всего: Тли Цикадки	84,9 15	438,9 312
Экспериментальная база «Пышлицы», Московская обл.		
Зеленая персиковая	0	6
Крушинная и крушинниковая	18,8	9,2
Обыкновенная картофельная	4,8	04
Черная бобовая	0,6	0,4
Большая картофельная	0,2	0
Цикадки	9	23
Всего: Тли Цикадки	24,4 15	16,0 23

** – с учетом коэффициента пересчета отдельных видов тлей на вредоносность зеленой персиковой тли*

базы «Пышлицы» за 2 года учета количество переносчиков вирусов за весь вегетационный период не превысило порог вредоносности (50 особей с учетом коэффициента пересчета отдельных видов тлей на вредоносность зеленой персиковой тли). Это связано с тем, что участки с семенным картофелем находятся в основном внутри лесного массива.

По результатам проведенного в 2016 году мониторинга переносчиков вирусов картофеля получены следующие данные (табл. 8). В 2016 году начало лета тлей в агроклиматических условиях Московской области было отмечено в 1-ой декаде июля. Общая численность тлей на одну ловушку составила 22,9 особей по ЭБ «Коренево» и 7,9 особей по ЭБ «Ильинское» (Васильева и др., 2016). Слабо выраженный пик массового лета тлей пришелся на 3-ю декаду июля и 1-ую декаду августа. Низкая численность тлей в 2016 году была обусловлена похолоданиями и обильными дождями в мае-июне месяцах, т.е. в период начала лета тлей, что мешало весеннему расселительному лету насекомых.

Несмотря на то, что в вегетационный период 2016 года порог вредоносности (50 особей с учетом коэффициента пересчета отдельных видов тлей на вредоносность зеленой персиковой тли) не наблюдался, удаление ботвы на посадках картофеля на ЭБ «Коренево» было проведено в 3-ей декаде августа, на семенных участках ЭБ «Ильинское» – во 2-ой декаде августа при накоплении в урожае 70-80% семенной фракции.

Проведение сравнительной оценки между динамикой лета переносчиков начала 70-х годов и данных наблюдений последних лет позволяет отметить, что произошедшие изменения в биологии фитофауны привели к резкому увеличению численности самого вредоносного вида тлей – зеленой персиковой. Если в 1970-1971 гг. (Раменский р-н Московской обл.) данный космополит находился на четвертом месте среди идентифицированных видов, то спустя 35 лет он становится лидирующим и переместился на первый план. Менее встречаемыми оказались крушинная и крушинниковая тли (Дьяконов, 1971; Клейменов, 1972; Васильева, Овэс, Зейрук и др, 2016).

В агроклиматических условиях 2017 года в Московской области начало лета тлей было отмечено в 1-ой декаде июля. Общая численность тлей на одну ловушку составила 22,9 особей. Слабо выраженный пик массового лета тлей пришелся на 3-ю декаду июля и 1-ую декаду августа. Наблюдаемая низкая численность тлей в 2017 году была обусловлена понижением температур и обильными дождями в мае - июне месяцах, т.е. в период начала лета тлей, что мешало весеннему расселительному лету насекомых.

По полученным в результате выполненных наблюдений данным, с помощью жёлтых чашек на территории тепличного комплекса (притепличная территория СПК «Элитный картофель», Раменский р-н, Московская обл.) в крайне неблагоприятном для развития тлей (регулярные ливневые дожди, сильные ветры в период учетов) вегетационном периоде 2017 г., было выявлено 5 видов тлей (табл. 9) – переносчиков вирусов, связанных с посадками картофеля.

В то же время в теплицах, где выращиваемые микрорастения подвергались интенсивным обработкам в течение сезона, не удалось обнаружить тлей какого-либо вида как при визуальных учетах на растениях, так и с помощью ловушек. Учитывая тот факт, что, несмотря на обработки посадок

Таблица 8. Динамика лета и видовой состав крылатых тлей-переносчиков вирусов, 2016 г.

Название (вид) тлей	Количество особей тлей, всего	В том числе по месяцам, декадам				
		июль			август	
		I	II	III	I	II
ЭБ «Коренево» Люберецкого района Московской обл.						
Зеленая персиковая	6	0	0	2	2	2
Крушинная, крушинниковая	12,4	0,8	2	6	1,2	2,4
Обыкновенная картофельная	1,6	0	0,4	0,8	0,4	0
Черная бобовая	2,9	0,3	1,0	1,1	0,3	0,2
Цикадки	48	0	0	10	7	31
Всего: Тли Цикадки	 22,9 48	 1,1 0	 3,4 0	 9,9 10	 3,9 7	 4,6 31
ЭБ «Ильинское» Домодедовского района Московской обл.						
Зеленая персиковая	2	0	0	1	1	0
Крушинная, крушинниковая	4,0	0	1,6	1,2	1,2	0
Обыкновенная картофельная	1,2	0	0,4	0,8	0	0
Черная бобовая	0,7	0,1	0,1	0,3	0,2	0
Цикадки	17	0	5	2	10	0
Всего: Тли Цикадки	 7,9 17	 0,1 0	 2,1 5	 3,3 2	 2,4 10,0	 0 0

Прим.: – с учетом коэффициента пересчета отдельных видов тлей на вредоносность зеленой персиковой тли*

минирастений около тепличного комплекса, оба года исследований на его территории обнаруживались тли-переносчики вирусной инфекции, возможность их залёта в теплицы не исключалась. Однако развитие тлей в теплицах сдерживалось интенсивным применением инсектицидов.

С целью снижения токсического пресса на агробиоценоз картофеля в тепличном комплексе и на околотепличных территориях необходимо вводить в систему защиты биологические средства (регулярные выпуски энтомофагов разных видов и микробиологические препараты с выраженным афицидным эффектом). Помимо повышения эффективности борьбы с тлями путем сочетания химических и биологических средств, это будет способствовать улучшению санитарно-гигиенических условий для работников тепличных комплексов, а также предупреждению развития резистентности к афицидам в популяциях тлей-переносчиков вирусной инфекции.

По полученным в ходе наших исследований в 2017 г. данным выявлена высокая эффективность опытной партии препарата Вертициллин. После проведенных обработок численность тлей на варианте с применением этого препарата находилась на уровне варианта с применением химического инсектицида Актара и была существенно (в 46-100 раз) ниже численности вредителей на контрольном варианте даже через три недели после проведения обработки. Биологическая эффективность препарата Вертициллин (97,8-100,0 %) не уступала эффективности химического препарата Актара (96,4-100,0 %). По результатам проведенного дисперсионного анализа между названными вариантами нет существенной разности, они достаточно эффективно снизили численность тлей на растениях картофеля уже после первой обработки, а после 2-й обработки сдерживали численность вредителей еще в течение трех недель (табл. 10).

Поскольку стратегической задачей биологической защиты является стабилизация межвидовых взаимодействий в системе триотрофа «растение-фитофаг-энтомофаг» (Павлюшин и др., 2001), формирование третьего структурно-фунуционального блока системы триотрофа в защищенном грунте и обеспечение условий его эффективной деятельности и составляет суть биологического метода защиты растений в теплицах. Заполнение этого блока соответствующими видами энтомофагов, энтомопатогенов и микробов-антагонистов осуществляется за счет изыскания этих организмов в природе и интродукции в той или иной форме и соответствующим способом в агроценозы теплиц. Против комплекса тлей в защищенном грунте применяется целый ряд энтомофагов. К ним относятся

Таблица 9. Численность лёта тлей, СПК «Элитный картофель», Раменский р-н Московской обл., июль 2017 г., шт.

Вид тли	Дата, июль		
	6	13	20
Тля бобовая	14	9	16
Тля большая картофельная	1	8	6
Тля обыкновенная картофельная	9	0	3
Тля крушинная	0	1	0
Тля персиковая	1	0	1
Всего:	25	18	26

Таблица 10. Биологическая эффективность изучаемых инсектицидов против тлей

№№ варианта	Вариант	Среднее число имаго и личинок на 100 листьев по срокам учётов					Снижение численности относительно контроля, % по срокам учётов				
		1-й	2-й	3-й	4-й	5-й	1-й	2-й	3-й	4-й	5-й
1.	Вертициллин	0,61	0,00	0,33	0,67	1,00	0	100,0	99,0	98,2	97,8
2.	Актара	0,00	0,00	0,67	1,33	0,67	0	100,0	97,8	96,4	98,7
3.	Вода - контроль	2,75	9,00	32,67	41,67	46,00	0	0	0	0	0
$НСР_{05}$		*	0,78	4,07	4,78	4,82	*	*	*	*	*

Прим. Сроки учётов:
1-й – перед первой обработкой, 16.06.
2-й – через 3 дня после 1-й обработки, 19.06.
3-й - через 7 дней после 1-й и перед 2-й обработкой, 23.06.
4-й - через 14 дней после 1-й обработки и 7 дней после 2-й обработки, 30.06.
5-й - через 21 день после 1-й обработки и 14 дней после 2-й обработки, 07.07.

Доминирующий вид: Тля персиковая = Тля оранжерейная (Myzodes = Myzus persicae Sulz.) – 85%.
** между вариантами нет существенного различия на 5%-ном уровне значимости.*

Таблица 11. Видовой состав энтомофагов притепличной территории, вегетационный период 2017 г.

№№	Энтомофаг	Численность в пересчете на 1м²
1.	Афидиусы разных видов, имаго	18
2.	Божьи коровки имаго и их личинки	5
3.	Златоглазки имаго и их личинки	2
4.	Сирфиды имаго	0,1

хищники-полифаги и паразиты, специализирующиеся на конкретных видах, поэтому выявление видового состава специализированных энтомофагов на притепличной территории было актуально в ходе проведения опытов.

Из собранного в течение трех летних месяцев материала видно (табл. 11), что преобладающим по численности видом среди специализированных энтомофагов на притепличной территории в СПК «Агрофирма «Элитный картофель» (п. Заворово, Раменский р-н, Московская область) являлись афидиусы (имаго), наименее часто встречались мухи-сирфиды.

На основании полученных результатов исследований можно сделать следующие выводы:

— доминирующим по численности видом в марлево-пленочных изоляторах (тоннелях) СПК «Агрофирма Элитный картофель» (п. Заворово, Раменский р-н, Московская область) являлась тля персиковая = тля оранжерейная (*Myzodes = Myzus persicae* Sulz.) – 85%;

— после проведенных обработок численность тлей на варианте с применением препарата Вертициллин находилась на уровне варианта с применением химического препарата Актара и была существенно (в 46-100 раз) ниже численности вредителей на контрольном варианте даже через три недели после проведения обработки;

— биологическая эффективность препарата Вертициллин (97,8-100,0 %) не уступала эффективности химического препарата Актара (96,4-100,0 %). По результатам проведенного дисперсионного анализа между названными вариантами нет существенной разности, они достаточно эффективно снизили численность тлей на растениях картофеля уже после первой обработки, а после 2-й обработки сдерживали численность вредителей еще в течение трех недель;

— доминирующим по численности видом среди энтомофагов на притепличной территории в СПК «Агрофирма Элитный картофель» (п. Заворово, Раменский р-н, Московская область) являлись афидиусы (имаго), наименее часто встречались мухи-сирфиды.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1.Абашкин О.В., Зейрук В.Н. Учет и видовой состав тлей-переносчиков вирусов картофеля в Московской области // Материалы Междунар. Юбил. Науч.-практ. Конф. Посвящ. 75-летию Ин-та картофелеводства НАН Белоруси. Минск, 2003. Ч. 2. с. 102.

2.Анисимов Б.В. Вирусные болезни и их контроль в семеноводстве картофеля. // Защита и карантин растений. 2010. № 5. С. 12-18.

Анисимов Б.В., Белов Г.Л., Варицев Ю.А. и др. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков.– М.: Картофелевод, 2009. 272 с.

Белякова Н.А., Поликарпова Ю.Б. Энтомофаги в защищенном грунте: новые критерии отбора видов и особенности современных агротехнологий // Вестник защиты растений. 2014. N 3. С. 3–10.

Белякова Н.А., Поликарпова Ю.Б. Скрининг энтомофагов для защиты семенного картофеля от тлей-переносчиков вирусов в современных теплицах // Вестник защиты растений. 2016. № 4(90). С. 44-50.

Берим М.Н., Персов М.П., Токарев Ю.С. Особенности жизнедеятельности и структуры популяции большой злаковой тли на территории Ленинградской области. // Научные труды СПГАУ. 1999. С. 64-70.

Берим М.Н., Радченко Е.Е. Диагностика и методы учета злаковых тлей. Методические рекомендации.– М.: Росинформагротех. 2002. 23 с.

Берим М.Н. Тли – вредители картофеля //Защита картофеля. 2017. №1. С. 30-34.

Васильева С.В., Овэс Е.В., Зейрук В.Н., Абашкин О.В., Старовойтова О.А., Абросимов Д.В., Масюк Ю.А. Сравнительная характеристика биоценозов картофеля и топинамбура в меняющихся климатических условиях. Картофелеводство: сб. науч. тр. / РУП «НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству». – Минск: 2016. Т. 24. С. 210-218.

Воловик А.С., Долягин А.Б., Глез В.М., Зейрук В.Н. Исследования по защите картофеля от болезней, вредителей и сорной растительности. – Методические рекомендации: М., 1991. 54 с.

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). – 5-е нзд., доп. и перераб. – М.: АГРОПромиздат, 1985. 351 с.

Дьяконов К.П. Основные и потенциальные переносчики вирусов картофеля из семейства *Aphididae* (Homoptera) в условиях Приморского края.// В кн.: Тезисы докладов 6-го Всесоюзного совещания по вирусным болезням растений. Часть. 2. М.: 1971. С.33.

Дьяконов К.П. Насекомые как фактор распространения фитопатогенных вирусов на Дальнем Востоке России // Чтения памяти А.И. Куренцова. 2000. вып. 11. С. 15-26.

Зейрук В.Н., Овэс Е.В., Абашкин О.В., Абросимов Д.В., Бавыкин П.Б. Изменение видового состава переносчиков вирусов картофеля по итогам многолетнего мониторинга // Материалы Междунар. Науч.-практ. Конф. Ин-та картофелеводства НАН Беларуси. Минск, 2008. 14. С. 391-395.

Зыкин А.Г. Тли – переносчики вирусов картофеля. Л.: Колос, 1970. 272 с.

Зыкин А.Г. Методические указания по наблюдениям за тлями-переносчиками вирусов картофеля. Л: ВИР. 1968. 32с.

Клейменов Б.В. Влияние приемов подготовки клубней к посадке, условий выращивания и раннего срока уборки на предохранение от заражения растений картофеля вирусами. – Авт. дисс. к.с.-х.н. 1972. 21 с.

Методика исследований по культуре картофеля.– М., 1967.

Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве. – Под ред. В.И. Долженко, Г.И. Сухорученко и др. СПб.: ВИЗР, 2009. 378 с.

Новикова И.И. Биологическое разнообразие микроорганизмов – основа для создания новых полифункциональных биопрепаратов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем // Вестник защиты растений. 201. №3 (89). С. 120-122.

Павлюшин В.А., Воронин К.Е., Красавина Л.П., Асякин Б.П., Раздобурдин В.А. Использование энтомофагов в биологической защите растений в теплицах России // Труды Русского энтомологического общества. 2001. Т. 72. С. 16.

Сухорученко Г.И., Иванова Г.П., Гончаров Н.Р., Долженко О.В., Наумова Н.И. Эффективность использования современных пестицидов для защиты семенных посадок картофеля от вредителей в Северо-Западном регионе РФ // В сборнике: Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования сборник научных трудов Международной научно-практической конференции. СПб, 2013. С. 125–127.

Тли (Homoptera, Aphididae). Диагностика, особенности биологии, разведение и методы учета в закрытом грунте /под ред. Член-корр. РАСХН, д.б.н. В.А. Павлюшина. – С.-П.: ВИЗР, 2006.

Штерншис М.В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2012. №2 (18). С. 92-100.

Юрлова С.М., Блинков Е.Г., Анисимов Б.В., Абашкин О.В. Мониторинг тлей – переносчиков вирусов при выращивании семенного картофеля. // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. ВНИИКХ «Развитие новых технологий селекции и создание отечественного конкурентоспособного семенного фонда картофеля». М., 2016. С. 200-210.

Яркулов Ф.Я., Белякова Н.А. Экологические основы биологической защиты тепличных культур // Защита и карантин растений. 2007. № 1. С. 19-22.

Поступила в редакцию: 25.10.2017
Опубликовано: 15.12.2017

Biological protection of nuclear seed potato from pests – vectors of viruses in greenhouses

V.N. Zeyruk[1] N.A. Belyakova[2], G.L. Belov[1], S.V. Vasilyeva[1], M.K. Derevyagina[1], G.V. Mitina[2]

[1]Lorh Potato Research Institute; Lorh st., 23, Kraskovo, Moscow region, 145023, Russia;
[2]All-Russian Plant Protection Research Institute. Podbelskogo av., 3, Pushkin, Sankt-Petersburg, Russia.

Abstract

Aphids and leafhoppers, a vectors of viruses, was monitored on fields and in greenhouses in various districts of the Moscow region in 2003-2017. Efficacy of the Verticillin - biological preparation, based on the strain Lecanicillium sp., and the chemical insecticide Actara was evaluated. Experiments were carried out on nuclear seed tubers of the medium potato variety Fioletovyi. The monitoring showed that in 2003, 116 individuals of green peach aphids (specific gravity 26.1%) were caught. In 2005 and 2007 there were only 58 and 54 of them (50% and 49.5% correspondingly). In subsequent years, peach aphids dominated both on fields and greenhouses. The total number of aphids on plants sprayed with Verticillin was equal to plants sprayed with Aktara and was significantly (46-100 times) lower than the number of pests in the control even three weeks after the treatment. The dominant species of entomophages on the near-greenhouse area was Afidious (imago), the least frequent were flies-syrphids.

Keywords: potato, virus diseases, aphids, Lecanicillium sp.

Влияние микробиологических удобрений на продуктивность и качество картофеля

Л.С. Федотова[1], Н.А. Тимошина[1], Е.В. Князева[1], Н.И. Аканова[2], М.М. Визирская[3]

[1]ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха, 140051, Московская обл., Люберецкий район, п. Красково, ул. Лорха, д. 23.

[2]ФГБНУ ВНИИ агрохимии им. Д.Н. Прянишникова. ул. Прянишникова, 31-А, Москва, 127550, Российская Федерация.

[3]АО МХК «ЕвроХим» ул. Дубининская, д.53, стр.6., г. Москва, 115054, Российская Федерация.

Аннотация

Сочетание предпосадочной обработки семенного материала биопрепаратом Агринос А и некорневого опрыскивания растений Агринос В на фоне полной дозы NPK [N90P90K90 + Агринос А+В (5 + 2,5 л)] способствовало формированию высокой урожайности (43,1 т/га) и товарности картофеля (96%) с одновременно низкой себестоимостью (4,33 руб./кг), высокой окупаемостью затрат (5,96) и рентабельностью производства 131%.

Однако в вариантах с применением Экстрасол: N90P90K90 + Экстрасол; N90P90K90 + Экстрасол + Агринос В/Экстрасол – аналогичные показатели были выше: урожайность – 45,6-47,6 т/га, себестоимость – 3,94-4,06 руб./кг, окупаемость затрат – 7,74-8,39 и рентабельность производства 146-154%.

В этих же вариантах [N90P90K90 + Экстрасол; N90P90K90 + Экстрасол + Агринос В/Экстрасол] сформировалось максимальное количество клубней средней фракции (30-60 мм в диаметре) – 16,0-16,4 шт./куст, что важно для семеноводческих целей; клубни продовольственной фракции (> 60 мм) характеризовались высокой крахмалистостью, содержанием витамина С и хорошими кулинарными показателями, концентрацией нитратов ниже ПДК.

В варианте со сниженной на 30% дозой NPK и применением Агринос А+В в максимальных дозах [N60P60K60 + Агринос А +В (5 + 2,5 л)]: уровень урожайности на 9,1 т/га (27%) выше полной дозы NPK, одновременно с этим высокая крахмалистость и содержание витамина С, отличные кулинарные качества, низкий уровень нитратов в продукции; условный доход на 69,5 тыс. руб./га выше N90P90K90, низкая себестоимость (4,33 руб./кг), высокая окупаемость затрат (5,55) и рентабельность производства 131%.

Ключевые слова: *продуктивность и качество картофеля, NPK-удобрения, микробиологические удобрения: Азотовит, Фосфатовит, Байкал, Экстрасол и Агринос А+В (HYT A+B)*

Для ссылки: *Федотова Л.С., Тимошина Н.А., Князева Е.В., Аканова Н.И., Визирская М.М. Влияние микробиологических удобрений на продуктивность и качество картофеля // Защита картофеля. – 2017. – №4. – С. 13-21.*

В наблюдающихся условиях изменения климата увеличивается зависимость технологий возделывания картофеля от плодородия почвы, снижения антропогенной нагрузки и подбора альтернативных форм удобрений (Шпаар и др., 2004; Жученко, 2010; Федотова, Кравченко, 2011; Wszelaczynska et al., 2005; Haverkort, Verhagen, 2008; Yanni et al., 2016; Cruz et al., 2017).

Экологами убедительно доказано, что качеством природной среды «автоматически» может управлять только биота, т.е. совокупность всех живых организмов Земли. Анализ моделей и натурные исследования показали, что биологическое разнообразие является главным критерием и признаком устойчивости экосистемы (Николайкин и др., 2003). Восстановить качество пахотных земель с помощью одних минеральных удобрений не представляется возможным, поэтому использование бактериальных удобрений может стать незаменимым инструментом повышения урожая картофеля в нестабильных агроклиматических условиях среды (Мишустин, Емцев, 1987; Кожемяков, Чеботарь, 1998; Решновецкий и др., 2003; Федотова и др., 2012).

Целью настоящего исследования было изучение влияние различных форм (Азотовит, Фосфатовит, Экстрасол, Байкал, Агринос), доз и способов применения микробиологических удобрений на урожайность, биохимический состав клубней картофеля, а также выявить наиболее оптимальную форму, дозу и способ применения биопрепаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2016-2017 гг. на территории опытной экспериментальной базы «Коренёво» Люберецкого района Московской области (ФГБНУ ВНИИКХ) был заложен полевой опыт с применением различных форм, доз и способов применения микробиологических препаратов при выращивании картофеля. Объект исследований – картофель, сорт Гала (II репродукция), среднеранний.

Полевые и лабораторные исследования по влиянию изучаемых препаратов на продуктивность и качество

Автор для переписки: Л.С. Федотова
*E-mail:*ldfedotova@gmail.com

картофеля осуществляли в полном соответствии с ГОСТами и стандартными методами, изложенными в следующих изданиях: «Методика исследований по культуре картофеля» (1967); «Методика физиолого-биохимических исследований по культуре картофеля» (1989); Доспехов, 1985.

Почва опытного поля характеризовалась как дерново-подзолистая супесчаная, с высокой обменной и гидролитической кислотностью (pH_{KCl} = 4,7-4,9; Нг = 3,5-3,9 мг-экв/100г почвы); средними значениями суммы поглощенных оснований и степени насыщенности ими (S = 3,7-4,1 мг-экв/100г почвы; V = 48,7-53,9%); высоким содержанием подвижного фосфора (265-356 мг/кг почвы) и средним содержанием обменного калия (127-154 мг/кг почвы); типичной гумусированностью (1,7-1,9%).

Метеорологические условия вегетационных периодов 2016 и 2017 годов в целом были удовлетворительными для роста, развития и продуктивности картофеля и одновременно благоприятными для развития грибных болезней.

Средняя температура воздуха за вегетационные периоды 2016 и 2017 гг. составила 18,6 и 16,2°С, при норме 16,5°С, осадков выпало 302,5 и 378,4 мм при норме 260,5 мм, соответственно. Гидротермический коэффициент $ГТК_{2016}$ = 1,67, $ГТК_{2017}$ = 2,31 (влажные годы) при климатической норме –1,3-1,4.

Схема опыта в 2016 году включала 11 вариантов в 3-х кратной повторности: 1. Без удобрений – контроль; 2.Без удобрений + Агринос А 2,5 л/га (клубни); 3.Без удобрений + Агринос А 2,5 л/га (клубни) + Агринос В 1,25 л/га (растения); 4. Фон (N90P90K90); 5. Фон + Агринос А 2,5 л/га (клубни); 6. Фон + Агринос А 5 л/га (клубни); 7. Фон + Агринос В 1,25 л/га (растения); 8. Фон + Агринос В – 2,5 л/га (растения); 9. Фон + Агринос А 2,5 л/га (клубни) + Агринос В 1,25 л/га (растения); 10. Фон + Агринос А 5 л/га (клубни) + Агринос В 2,5 л/га (растения); 11. N60P60K60 + Агринос А 5 л/га (клубни) + Агринос В 2,5 л/га (растения).

В 2017 года схема была усложнена за счет введения в исследования аналогичных Агриносу микробиологических препаратов (контрагентов), ранее хорошо зарекомендовавших себя в практике возделывания картофеля: смесь Азотовит + Фосфатовит, Экстрасол, Байкал. В результате схема увеличилась до 16 вариантов (табл. 1).

Характеристика агрохимикатов: Агринос А (HYT A) содержит более 80 штаммов из более 10 семейств аэробных и анаэробных микроорганизмов, которые выполняют широкий набор функций, поддерживает развитие здоровой корневой зоны культуры. Агринос А – титр КОЕ/мл аэробных=$1,5x10^7$; анаэробных=$1,5x10^7$. Агринос В содержит комплекс аминокислот – 4 %; глюкозамин – 4%, хитозан – 4%. Механизм действия: Агринос А - улучшает усвоение питательных веществ и биологическую фиксацию азота, позволяет перевести органические и минеральные формы азота в более удобные для поглощения растениями соединения, улучшает структуру почвы и ее водоудерживающую способность. Агринос В - источник питания растений и микроорганизмов почвы.

Азотовит представляет собой культуральную жидкость свободноживущих бактерий азотофиксаторов *Azotobacter chroococcum*, $1x10^7$ КОЕ/мл (4-ый класс опасности – малоопасное соединение). Механизм действия: обеспечивает растения азотом, связывая его из атмосферы.

Препарат фосфатовит представляет собой культуральную жидкость бактерий *Bacillus mucilaginosus*, $1x10^7$ КОЕ/мл (4-ый класс опасности – малоопасное соединение). Механизм действия: обеспечивает растения доступным фосфором, переводя труднодоступный фосфор в усвояемую форму.

Экстрасол – жидкая форма штамма ризосферных бактерий *Basillus subtilus* Ч-13, с титром порядка 1x108 КОЕ/мл, является микробиологическим удобрением и стимулятором роста, 4-ый класс опасности – малоопасное соединение.

«Байкал» ЭМ-1 – содержит около 60 штаммов микроорганизмов (4-ый класс опасности – малоопасное соединение). Общее содержание живых микроорганизмов не превышает 10^5-10^6 КОЕ/мл. Вместе они составляют

Таблица 1. Схема полевого опыта, 2017 г.

№ варианта	Фон NPK	Биопрепараты, обработка семян перед посадкой	Биопрепараты, опрыскивание растений
1	Без удобрений	**Контроль без препаратов**	
2		Агринос А 2,5 л/га	
3		Агринос А 2,5 л/га	Агринос В 1,25 л/га
4	N90P90K90	**Контроль без препаратов**	
5		Агринос А 2,5 л/га	
6		Агринос А 5 л/га	
7		Агринос А 2,5 л/га	Агринос В 1,25 л/га
8		Агринос А 5 л/га	Агринос В 2,5 л/га
9		(Азотовит + Фосфатовит) 2 л/т	
10		Экстрасол 2,0 л/т	
11		Байкал 2,0 л/т	
12		(Азотовит + Фосфатовит) 2 л/т	Агринос В 2,5 л/га
13		Экстрасол 2 л/т	Агринос В 2,5 л/га
14		Байкал 2 л/т	Агринос В 2,5 л/га
15		Экстрасол 2 л/т	Экстрасол 2 л/га
16	N60P60K60	Агринос А 5 л/га	Агринос В 2,5 л/га

устойчивый симбиоз, поддерживают друг друга, поэтому длительно живут в почве. Наиболее крупные группы микроорганизмов, входящих в препарат: фотосинтезирующие и молочнокислые бактерии, дрожжи, актиномицеты, ферментирующие грибы типа *Aspergillus*, *Penecillium*. Каждая разновидность эффективных микроорганизмов имеет собственную важную функцию, но при этом поддерживает действие других микроорганизмов и использует вещества, произведенные этими микроорганизмами.

Способы применения препаратов: рабочие растворы микробиологических препаратов, в т.ч. Агринос А (HYT A) вносили на отдельных вариантах опыта во время посадки путем распыления: 1/3 дозы на клубни и 2/3 дозы на почву клубневого ложа. Расход препаратов изменялся согласно схемы опыта.

В фазу полная бутонизация картофеля проводили некорневое опрыскивание препаратами, в т. ч. Агринос В (HYT B). Расход препаратов изменялся согласно схемы опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фенологические наблюдения за ростом и развитием растений картофеля показали, что в 2016 и 2017 годах визуальных различий в наступлении фенофаз по вариантам опыта не наблюдалось, различия были только в наступлении начала отмирания ботвы, на вариантах с минеральными и бактериальными удобрениями – начало отмирания ботвы задерживалось на 2-3 дня. Полного отмирания ботвы в вариантах опыта не отмечали.

В вариантах с предпосадочной обработкой клубней биопрепарами биологическая активность почвы через два месяца после закладки льняных полотен повышалась на 12-30% (рис. 1). Высокая биологическая активность почвы и обеспеченность доступными элементами питания в вариантах с применением биопрепаратов способствовали повышению продуктивности картофеля (табл. 2).

Применение минеральных удобрений в полной дозе (N90P90K90) стимулировало развитие стеблестоя, общего количества клубней до 16,5 шт./куст и массы товарных клубней до 120 г, при этом одновременно выросло количество семенных клубней (фракция 30-60 мм) до 11,9 шт. с более низкой массой 55 г.

В вариантах с 5 по 8-ой, в которых использовали предпосадочную и некорневую обработку препаратом Агринос А и В, количество товарных клубней (фракции > 60 мм в диаметре) снизилось, но увеличилось количество семенных клубней до 14,1-16,2 шт/куст.

От действия предпосадочной клубневой обработки препаратом Экстрасол количество семенных клубней увеличилось до 16 шт/куст, наложение некорневых обработок препаратами Агринос В (вар. 13) и Экстрасол (вар. 15) привело к формированию практически такого же количества клубней (15,9-16,4 шт./куст с массой 60-62 г). В варианте с предпосадочной обработкой Байкалом сформировалось 15 шт./куст, а наложение некорневой обработки Агринос В существенно увеличило их количество до 16 шт./куст.

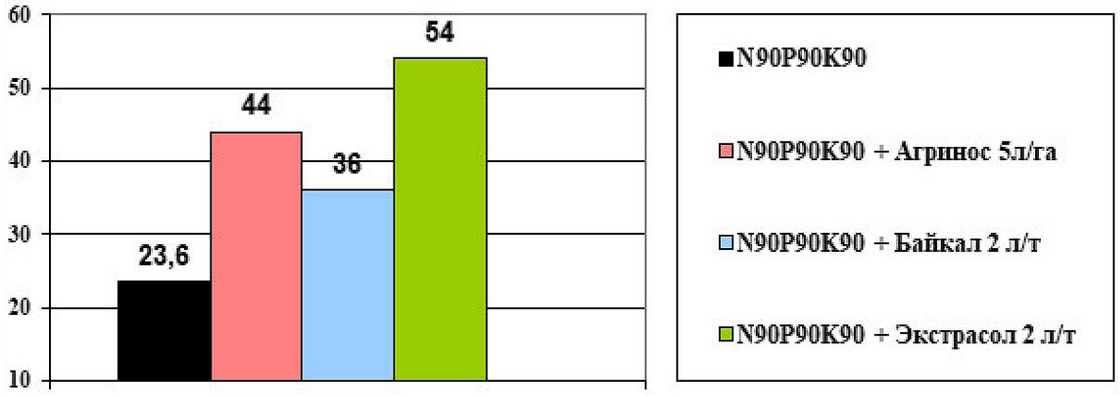

Рис. 1. Биологическая активность почвы (%) по методу льняных полотен, 2017 г.

Меньше всего сформировалось семенных клубней от обработки смесью препаратов Азотовит+Фосфатовит (14,7 шт/куст), наложение некорневой обработки Агринос В не повысило выход семенной фракции (количество), но привело к увеличению массы продовольственных и семенных клубней.

В варианте со сниженной дозой NPK и совместным применением Агринос А и В (вар. 16) по сравнению с минеральным фоном снизилась доля продовольственных клубней, но увеличилась их масса и существенно повысился выход семенной фракции с 11,9 до 15,5 шт/куст.

Применение микробиологических препаратов способствовало не только увеличению урожая и изменению его структуры, но и повышению полезных компонентов в продукции (табл. 3,4). Применение Агринос А в двух дозах (2,5 и 5,0 л/га) перед посадкой на неудобренном фоне, достоверно увеличивало урожайность, но не приводило к повышению крахмалистости клубней.

Действие полной дозы NPK на показатели качества картофеля в 2017 году было аналогично предыдущему году, в среднем же за 2016-2017 гг. в варианте с полной дозой NPK наблюдалось снижение: сухого вещества/крахмала на 1,4/1,3%, витамина С на 1,2 мг% и повышение концентрации нитратов практически вдвое по сравнению с показателями абсолютного контроля.

Таблица 2. Урожайность картофеля сорта Гала в зависимости от применения микробиологических препаратов

Варианты опыта	Урожайность, т/га			Прибавки к абс. контр. и N90P90K90	
	2016 г.	2017 г.	среднее	т/га	%
1.Без удобрений	28,9	24,2	26,5	–	100
2. Б/уд + Агринос А 2,5 л/га	32,8	25,9	29,3	2,8	10,6
3. Б/уд + Агринос А 5 л/га	32,8	29,3	31,0	4,5	16,7
4.Фон - $N_{90}P_{90}K_{90}$	35,8	33,6	34,7	–	100
5. Фон + Агринос А (2,5 л/га)	36,2	36,9	36,6	1,9	5,5
6.Фон+ Агринос А (5 л/га)	37,2	42,8	40,0	5,3	15,3
7. Фон + Агринос А (2,5 л/га) + Агринос В (1,25 л/га)	39,8	38,3	39,0	4,3	12,4
8. Фон+ Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	43,2	43,1	43,2	8,5	24,5
9. Фон + (Азотовит + Фосфатовит), 2 л /т семян	–	41,2	–	7,6	22,6
10.Фон + Экстрасол 2 л/т семян	–	45,6	–	12,0	35,7
11.Фон+ Байкал 2 л/т семян	–	40,1	–	6,5	19,3
12. Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га)	–	41,0	–	7,4	22,0
13. Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га);	–	47,6	–	14,0	41,7
14. Фон + Байкал (2 л/т семян) + Агринос В (2,5 л/га);	–	42,8	–	9,2	27,4
15. Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га	–	47,2	–	13,6	40,5
16. $N_{60}P_{60}K_{60}$ + Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	38,4	42,7	40,5	5,8	16,7
$НСР_{05}$	1,4	1,7			
$НСР_{05}$%	3,2	4,4			

Прим. "–" – исследования не проводили (здесь и далее)

От применения Агринос А (2,5 и 5,0 л/га) на минеральном фоне (N90P90K90) наблюдалась тенденция увеличения крахмалистости клубней. Совместное применение Агринос А (до посадки) и Агринос В (по ботве) – 7-ой и 8-ой варианты – существенно увеличивало урожайность и товарность, но при этом происходило снижение содержания сухого вещества и крахмала в продукции, аналогично действию полной дозы минерального удобрения.

Применения контрагентов для предпосадочной обработки семенного материала (препараты: Азотовит + Фосфатовит, Экстрасол и Байкал) на минеральном фоне также было недостаточно для повышения крахмалистости клубней до уровня неудобренного контроля. Только в трех вариантах (12, 13 и 15-ый) совместного действия предпосадочной обработки и некорневого опрыскивания биопрепаратами содержание сухого вещества/крахмала достигло уровня абсолютного контроля – 19,5-20,2/ 13,7-14,4%: Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га); Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га) и Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га.

В варианте со сниженной дозой NPK в сочетании с Агринос А+В повышалось содержание сухого вещества, крахмала и витамина С в продукции до 18,3/12,7% и 21,3 мг% по сравнению с минеральным фоном 17,5/11,8% и 20,1 мг%, соответственно.

Наилучшие результаты по накоплению витамина С в клубнях отмечены в тех же 3-х вариантах, что и по крахмалистости: Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га); Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га) и Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га – 28,7-30,6 мг%, что выше абсолютного контроля – 28,3 мг%.

В условиях избыточно влажного 2017 года повышение доз Агринос А и В (2,5→5 л/га и 1,25 → 2,5 л/га) способствовало снижению «занитраченности» продукции. Наиболее существенно повышали концентрацию нитратов следующие препараты: (Азотовит + Фосфатовит) и Байкал. Наложение некорневого опрыскивания Агринос В на фоне этих препаратов способствовало снижению нитратов до допустимого уровня.

Для картофеля, который в России преимущественно

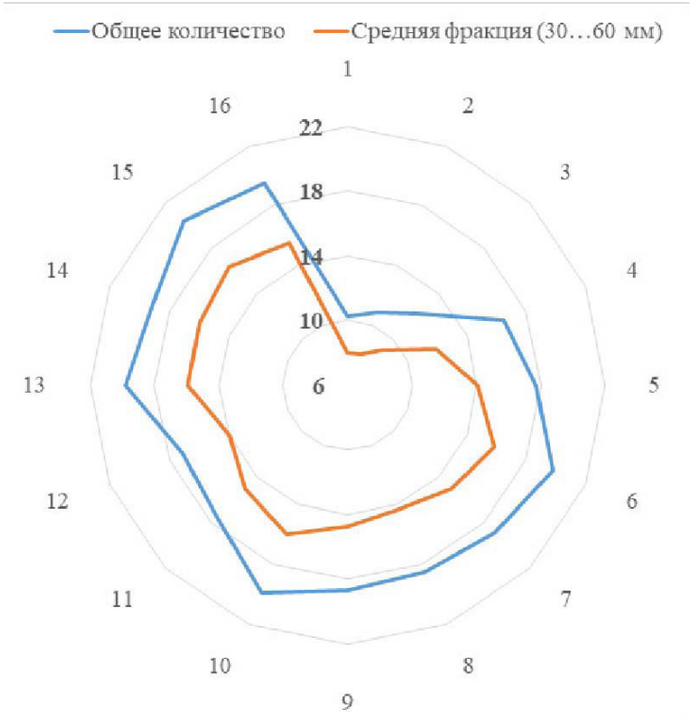

Рис. 2. Количество клубней в расчёте на 1 куст, общее и средней фракции (30-60 мм), 2017 г.
По кругу – варианты, по оси - количество клубней.

употребляется в пищу в варёном виде, важным показателем является вкус варёных клубней, разваримость, устойчивость к потемнению мякоти (сырой и вареной). В сумме эти показатели качества определяют комплексную кулинарную оценку, зависящую от сорта картофеля, метеоусловий вегетационного периода, доз и форм применяемых удобрений.

В нашем опыте высокие кулинарные качества продукции в среднем за 2016-2017 гг. сформированы в вариантах (1,2,3) без применения минеральных удобрений: хороший вкус (7-7,4 балла) и средняя развариваемость (3 балла), отсутствие потемнения варёной (9 баллов) и слабое потемнение сырой мякоти (8 баллов), в сумме 27,0-27,4 балла, по сравнению с полной дозой нитроаммофоски 23,8 балла (табл. 5).

В варианте с полной дозой NPK отмечено снижение разваримости до 1 балла (не разваривается) и вкуса до 6,3 балла, усиление потемнения сырой мякоти, в результате на этом варианте получен самый низкий суммарный балл – 23,8. Предпосадочная обработка клубней Агринос А (2,5 и 5 л/га) на фоне полной дозы NPK (5 и 6-ой варианты) повысили разваримость и немного вкус, наложение же некорневой обработки Агринос В способствовало дальнейшему повышению качества продукции по сравнению с минеральным фоном, однако уровня вариантов без удобрений не было достигнуто.

Из контрагентов по действию на потребительские качества выделились варианты с Экстрасолом, как при отдельном его применении перед посадкой, так и в сочетании с некорневыми подкормками Агринос В и Экстрасол, в сумме на этих вариантах продукция получила 27,5-28,0 баллов, что выше минерального фона и абсолютного контроля.

В варианте [N60P60K60 + Агринос (А 5 л + В 2,5 л)], в котором доза минеральных удобрений снижена на 30%, качество продукции по содержанию крахмала, сухого вещества и витамина С было практически на уровне неудобренного контроля и существенно лучше минерального фона как по этим показателям, так и по концентрации нитратов и потребительским качествам.

ОБСУЖДЕНИЕ

Расчёт экономической эффективности (Полунин и др., 2007) по результатам полевого опыта показал, что применение биопрепаратов для предпосадочной обработки почвы и клубней в сочетании с некорневым опрыскиванием, как на фоне полной дозы NPK, так и на фоне 2/3 дозы минеральных удобрений, было экономически выгодно (таблица 6).

Сочетание предпосадочной обработки семенного материала биопрепаратом Агринос А и некорневого опрыскивания растений Агринос В в максимальных дозах на фоне полной дозы NPK [N90P90K90 + Агринос А+В (5 + 2,5 л)] способствовало формированию высокой урожайности (43,1 т/га) и товарности картофеля (96%) с одновременно низкой себестоимостью (4,33 руб./кг), высокой окупаемостью затрат (5,96) и рентабельностью производства 131%.

Однако в вариантах с применением Экстрасол, как отдельно для предпосадочной обработки клубней, так и в сочетании с некорневыми подкормками Агринос В и Экстрасол [N90P90K90 + Экстрасол; N90P90K90 + Экстрасол + Агринос В/Экстрасол] получены более высокие урожайность (45,6-47,6 т/га) и экономические показатели: низкая себестоимость (3,94-4,06 руб./кг) и высокая окупаемость затрат (7,74-8,39).

Максимальная величина условно чистого дохода от дополнительной продукции и рентабельность производства получены в вариантах с применением Экстрасола: в 10-м варианте [N90P90K90 + Экстрасол

Таблица 3. Влияние микробиологических препаратов на содержание сухого вещества и крахмала в клубнях

Варианты опыта	Содержание сухого вещества, %			Содержание крахмала, %		
	2016 г.	2017 г.	среднее	2016 г.	2017 г.	среднее
1.Без удобрений	17,9	19,8	18,9	12,2	14,0	13,1
2. Б/уд + Агринос А 2,5 л/га	17,8	19,7	18,7	12,1	14,0	13,0
3. Б/уд + Агринос А 5 л/га	18,8	19,3	19,0	13,1	13,5	13,3
4.Фон - N90P90K90	16,7	18,3	17,5	11,0	12,6	11,8
5. Фон + Агринос А (2,5 л/га)	16,5	19,2	17,9	11,1	13,5	12,3
6.Фон+ Агринос А (5 л/га)	17,2	19,0	18,1	11,4	13,5	12,5
7. Фон + Агринос А (2,5 л/га) + Агринос В (1,25 л/га)	16,0	18,7	17,3	10,2	13,1	11,7
8. Фон+ Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	15,2	18,9	17,0	9,4	13,2	11,3
9. Фон + (Азотовит + Фосфатовит), 2 л /т семян	–	18,0		–	12,7	
10.Фон + Экстрасол 2 л/т семян	–	18,1		–	12,5	
11.Фон+ Байкал 2 л/т семян	–	18,4		–	13,1	
12. Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га)	–	19,5		–	13,7	
13. Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га);	–	19,7		–	13,9	
14. Фон + Байкал (2 л/т семян) + Агринос В (2,5 л/га);	–	18,5		–	13,1	
15. Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га	–	20,2		–	14,4	
16. N60P60K60 + Агринос 1 (5 л/га) + Agrinos 2 (2,5 л/га)	17,5	19,1	18,3	11,8	13,5	12,7
$НСР_{05}$	1,1	0,8		0,9	0,6	

2 л/т] – 108,1 тыс. руб./га (на 75% выше фона NPK) и 146%; в 13 варианте [N90P90K90 + Экстрасол 2 л/т + Агринос В 2,5 л/га] – 126,6 тыс. руб./га (на 88% выше фона NPK), 154%; в 15 варианте [N90P90K90 + Экстрасол 2 л/т + Экстрасол 2 л/га] – 123,7 тыс. руб./га, 153%, соответственно.

В этих же вариантах [N90P90K90 + Экстрасол; N90P90K90 + Экстрасол + Агринос В/Экстрасол] сформировалось максимальное количество клубней средней фракции (30-60 мм в диаметре) – 16,0-16,4 шт./куст, что важно для семеноводческих целей; клубни продовольственной фракции (> 60 мм) характеризовались высокой крахмалистостью, содержанием витамина С и хорошими кулинарными показателями, концентрацией нитратов ниже ПДК, в почве наблюдали присутствие дождевых червей.

Особого внимания заслуживает вариант со сниженной на 30% дозой NPK и применением Агринос А+В в максимальных дозах [N60P60K60 + Агринос А +В (5+2,5 л)]: в почве наблюдали присутствие дождевых червей; уровень урожайности на 9,1 т/га (27%) выше полной дозы NPK, одновременно с этим высокая крахмалистость и содержание витамина С, отличные кулинарные качества, низкий уровень нитратов в продукции; условный доход на 69,5 тыс. руб./га выше фона NPK, низкая себестоимость (4,33 руб./кг), высокая окупаемость затрат (5,55) и рентабельность производства 131%.

Таким образом, регулирование уровня урожайности и качества картофеля можно осуществлять путем снижения доз минеральных удобрений в сочетании с предпосадочными и некорневыми обработками микробиологическими удобрениями. Интерпретация экспериментальных данных за 2016-2017 гг. позволяет оценить бактериальные препараты: Азотовит, Фосфатовит, Байкал, Экстрасол, Агринос, как экологически значимые формы удобрений, способствующие активизации биологического потенциала почвы, формирующие высокую продуктивность и качество картофеля на фоне полных и пониженных доз минеральных удобрений.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. 5-е изд., доп. и перераб. М.: Агропромиздат, 1985. 336 с.

Жученко А.А. Система адаптивного реагирования на глобальные и локальные изменения погоды и климата / Экономика сельского хозяйства и перерабатывающих предприятий. 2010. № 10. С. 1-5.

Кожемяков А. П., Чеботарь В. К. Биопрепараты для земледелия // В кн.: Биопрепараты в сельском хозяйстве (Методология и практика применения микроорганизмов в растениеводстве и кормопроизводстве). М.:2005. С.18-54.

Мишустин Е.Н., Емцев В.Т. Микробиология. М.: Агропромиздат.1987. 368 с.

Таблица 4. Влияние микробиологических препаратов на содержание витамина С и нитратов в клубнях

Варианты опыта	Содержание витамина С, мг%			Содержание NO_3, мг/кг сырых клубней		
	2016 г.	2017 г.	среднее	2016 г.	2017 г.	Среднее
1.Без удобрений	14,4	28,3	21,3	103	96	99
2. Б/уд + Агринос А 2,5 л/га	14,0	27,0	20,5	120	122	121
3. Б/уд + Агринос А 5 л/га	14,4	27,0	20,7	52	120	86
4.Фон - N90P90K90	15,7	24,5	20,1	150	305	227
5. Фон + Агринос А (2,5 л/га)	15,3	27,7	21,5	195	326	260
6.Фон+ Агринос А (5 л/га)	16,3	28,3	22,3	156	310	233
7. Фон + Агринос А (2,5 л/га) + Агринос В (1,25 л/га)	13,6	27,1	20,3	225	277	251
8. Фон+ Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	14,4	28,9	21,7	229	229	229
9. Фон + (Азотовит + Фосфатовит), 2 л /т семян	–	25,0		–	320	
10.Фон + Экстрасол 2 л/т семян	–	26,5		–	260	
11.Фон+ Байкал 2 л/т семян	–	25,1		–	273	
12. Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га)	–	30,5		–	274	
13. Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га);	–	30,6		–	252	
14. Фон + Байкал (2 л/т семян) + Агринос В (2,5 л/га);	–	26,0		–	217	
15. Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га	–	28,7		–	198	
16. N60P60K60 + Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	15,6	26,9	21,3	197	202	199
$НСР_{05}$	1,1	1,5		23	36	

Николайкин Н.И., Николайкина Н.Е., Мелехова О.П. Экология: Учеб. для вузов/ 2-е изд., перераб. и доп. М.: Дрофа, 2003. 624 с.

Полунин Г.А. [и др.] Методические рекомендации по определению годового экономического эффекта от использования НИР и ОКР в АПК. М.: АНО «НИЦПО», 2007. 32 с.

Решновецкий С.Б., Климова Н.В., Балычева О.В. Биопрепараты на картофеле. Материалы Международной юбилейной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Института картофелеводства НАН Беларуси. Минск, 2003. Ч. 2. С. 182-185.

Федотова Л.С., Кравченко А.В. В изменяющихся климатических условиях нужны новые подходы к возделыванию картофеля// Картофель и овощи. 2011. № 2. С.20-23.

Федотова Л.С., Кравченко А.В., Тимошина Н.А., Гаврилов А.Н. Применение бактериальных удобрений при возделывании картофеля // Плодородие. 2012. №2 (65). С. 6-9.

Шпаар Д., Быкин А., Дрегер Д. и др. Картофель (Возделывание, уборка, хранение). 3-е издание доработанное и дополненное. Торжок: ООО «Вариант», 2004.465 с.

Haverkort A.J., Verhagen A. Climate Change and Its Repercussions for the Potato Supply Chain. // Potato Research. 2008. 51. P. 223–237.

Wszelaczynska E., Wichrowska D., Rogozinska I. Effect of bioelements (Mg, N, K) and herbicides on vitamin C content in potato tubers / Part II. Dy-namics of the vitamin C changes in stored potato tubers // Journal Elementology. 2005. №10 (4). P. 1117-1125.

Yanni, S.F.; Janzen, H.H.; Gregorich, E.G.; Ellert, B.H.; Larney, F.J.; Ol-son, B.M.; Zvomuya, F. Organic Carbon Convergence in Diverse Soils toward Steady State: 21-Year Field Bioassay// Soil Science Society of American Journal. 2016. V. 80. (6). P. 1653-1662.

Cruz, EOA., Oramas, G.G., Gonzalez RL., Alonso, JIV., Ost, P., Cepero, ZM. Response of potato's cultivation (Solanum tuberosum L.) to the combination of the ecological fertilizer HerbaGreen with chemical fertilizer// CENTRA AGRICOLA. 2017. V. 44. (1). P. 80-89.

Поступила в редакцию: 22.10.2017
Опубликовано: 15.12.2017

Таблица 5. Влияние микробиологических препаратов на потребительские показатели качества картофеля сорта Гала

Варианты опыта	Потемнение мякоти через 24 часа		Разварь-ваемость	Вкус	Сумма баллов
	сырой	варёной			
1.Без удобрений	8	9	3	7	27,0
2. Б/уд + Агринос А 2,5 л/га	8	9	3	7,2	27,2
3. Б/уд + Агринос А 5 л/га	8	9	3	7,4	27,4
4.Фон - $N_{90}P_{90}K_{90}$	7,5	9	1	6,3	23,8
5. Фон + Агринос А (2,5 л/га)	7,5	9	2	6,6	25,1
6.Фон+ Агринос А (5 л/га)	8	9	2	6,3	25,3
7. Фон + Агринос А (2,5 л/га) + Агринос В (1,25 л/га)	9	9	2	6,4	26,4
8. Фон+ Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	7,5	9	3	6,5	26,0
9. Фон + (Азотовит + Фосфатовит), 2 л /т семян	8	9	3	5,5	25,5
10.Фон + Экстрасол 2 л/т семян	9	9	3	6,5	27,5
11.Фон+ Байкал 2 л/т семян	9	9	1	7,5	26,5
12. Фон + (Азотовит + Фосфатовит) + Агринос В (2,5 л/га)	7	9	3	6,5	25,5
13. Фон + Экстрасол 2л/т семян + Агринос В (2,5 л/га);	9	9	5	6,5	29,5
14. Фон + Байкал (2 л/т семян) + Агринос В (2,5 л/га);	9	9	3	6,0	27,0
15. Фон + Экстрасол (2 л/т семян) + Экстрасол 2,0 л/га	7	9	3	9,0	28,0
16. N60P60K60 + Агринос А (5 л/га) + Агринос В (2,5 л/га)	8	9	3	7,0	27,0

Таблица 6. Экономические показатели производства картофеля сорта Гала, 2017

№ п/п	Стоимость дополнительной продукции, руб/га	Доп. затраты, руб/га	Условный доход руб/га	Окупаемость, руб/руб	Себестоимость, руб/кг	Рентабель-ность, %
1	–	–	–	0	6,75	48
2	12000	3005	8995	2,99	6,53	53
3	45000	7700	37300	4,84	5,91	69
4 NPK	94000	22666	71334	3,15	5,47	83
5	129000	27741	101259	5,90	4,83	107
6	186000	34596	151404	6,71	4,33	131
7	142000	29758	112242	5,77	4,71	112
8	190000	36451	153549	5,96	4,33	131
9	163000	33276	129724	5,50	4,55	120
10	215000	35556	179444	8,39	4,06	146
11	166000	31146	134854	7,49	4,46	124
12	171000	35491	135509	5,00	4,51	122
13	237000	39031	197969	7,74	3,94	154
14	192000	34981	157019	6,96	4,27	134
15	233000	37976	195024	8,08	3,95	153
16.2/3NPK +А 5л+В 2,5л	82000	12525	69475	5,55	4,33	131

Influence of microbiological fertilizers on productivity and quality of potatoes

L.S. Fedotova[1], N.A. Timoshina[1], E.V. Knyazeva[1], N. I. Akanova[2], M.M. Vizirskaya[3]

[1] Lorh Potato Research Institute; Lorh st., 23, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia;
[2]All-Russian D.N. Pryanishnikov Research Institute of agrochemistry. Pryanishnikov street, 31-A, Moscow, 127550, Russia;
[3]EuroChem Group AG. Dubininskaya street, 53, p. 6., Moscow, 115054, Russia.

Abstract

The combination of prelanding processing of seed material a biological product of Agrinos and yes not root spraying of plants of Agrinos in against the background of a full dose of NPK [N90P90K90 + Agrinos of A+B (5 + 2,5 l)] promoted formation of high productivity (43,1 t/hectare) and marketability of potatoes (96%) with at the same time low prime cost (4,33 rub/kg), high economic return (5,96) and profitability of production of 131%.

However, in options with application Ekstrasol: N90P90K90 + Ekstrasol; N90P90K90 + Ekstrasol + Agrinos B / Ekstrasol - similar indicators were higher than Agrinos: productivity - 45,6-47,6 t/hectare, prime cost - 3,94-4,06 rub/kg, economic return - 7,74-8,39 and profitability of production of 146-154%.

In the same options [N90P90K90 + Ekstrasol; N90P90K90 + Ekstrasol + Agrinos B / Ekstrasol] was created the maximum quantity of tubers of average fraction (30-60 mm in the diameter) - 16,0-16,4 pieces / a bush that is important for the seed-growing purposes; tubers of food fraction (> 60 mm) were characterized by a high content of starch, vitamin C and good culinary indicators, concentration of nitrates the maximum allowable concentration is lower.

In option with the dose of NPK lowered by 30% and application of Agrinos of A+B in the maximum doses [N60P60K60 + Agrinos And + In (5 + 2,5 l)]: productivity level on 9,1 t/hectare (27%) above a full dose of NPK, along with it a high content of starch, vitamin C, excellent culinary qualities, low level of nitrates in production; the conditional income for 69,5 thousand rub/hectare above N90P90K90, low prime cost (4,33 rub/kg), high economic return (5,55) and profitability of production of 131%.

Keywords: *productivity and quality of potato, NPK-fertilizers, microbiological fertilizers: Azotovit, Fosfatovit, Baikal, Ekstrasol and Agrinos A+B (HYT A+B)*

Технология посадки картофеля

К.А. Пшеченков, С.В. Мальцев, А.В. Смирнов

ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха. 140051, Московская область, Люберецкий район, п. Красково, ул. Лорха, д. 23

Аннотация

Посадка картофеля – это целый комплекс взаимосвязанных технологических операций, которые необходимо выполнить в короткий срок продолжительностью не более 10-15 дней. В решении этой задачи основная роль принадлежит вопросу обеспечения максимальной сменной выработки посадочного агрегата, что возможно при выполнении сажалкой только одной операции – высадки клубней, а все сопутствующие работы должны выполняться или в стационарных условиях или с разрывом по времени. Однако в последнее время наметилась обратная тенденция, а именно, совмещение в посадочном агрегате таких операций, как подготовка почвы, внесение минеральных удобрений, обработка клубней в сошнике сажалки, формирование полнообъёмных высоких гребней. Всё это связано со значительными затратами времени на технологическое обслуживание комбинированного агрегата, на необходимость использования дорогостоящих энергонасыщенных тракторов и, как следствие, со снижением производительности и затягиванием сроков. Многолетний опыт показывает, что при затягивании сроков, что часто бывает при больших объёмах посадки, значительная часть семенных клубней сильно прорастает, что приводит к образованию простоев, ухудшению семенных качеств и снижению урожайности. Поэтому посадка картофеля должна проводиться с минимально возможными технологическими простоями и быть максимально производительной. Это является непростой задачей, решение которой особенно сложно при выращивании картофеля на суглинистых почвах.

Ключевые слова: *картофель, посадка, сажалка, производительность посадочного агрегата, внесение удобрений*

Для ссылки: *Пшеченков К.А., Мальцев С.В., Смирнов А.В. Технология посадки картофеля // Защита картофеля. – 2017. – №4. – С. 22-26.*

Аналитическая зависимость между скоростью движения (Vp), шириной захвата (Bp) и производительностью машино-тракторного агрегата имеет следующий вид:

$$W=0,1 * Bp * Vp * \tau \qquad (1)$$

где τ – коэффициент использования времени смены, равный:

$$\tau = \frac{Tp}{Tp + Tто + Tхх + Tнтп + Tун + Tп} \qquad (2)$$

где Тр – время чистой работы, ч. (посадка).

Тто – время технологического обслуживания, зависящее от способа и удобства загрузки клубней в сажалку, вместимости бункера, загрузки удобрений, заправки раствором препарата, места загрузки - на поворотной полосе или в борозде и т.д.

Тхх – время на повороты, зависящее от ширины поворотной полосы, состава посадочного агрегата и его конструктивных особенностей.

Тнтп – время на устранение нарушений технологического процесса, например, очистка питательных ковшей, ложечек, забиваний рабочих органов, тукопроводов, распылителей (форсунок) и т.д.

Тун – время на устранение неисправностей.

Тп – простои в ожидании семенного материала.

Из формулы (2) следует, что чем больше значение составляющих знаменателя, тем ниже производительность посадочного агрегата. При этом скорость, определяющая время чистой работы, сама по себе не оказывает существенного влияния на производительность без одновременного сокращения времени на технологическое и прочее обслуживание, поскольку с повышением скорости снижается время чистой работы.

Следовательно, для обеспечения максимальной производительности посадочный агрегат должен иметь простую конструкцию и выполнять одну операцию - высадку клубней, чтобы затраты времени на технологическое и прочее обслуживание были минимальными. Для этого должна быть соответствующая конструкция и вместимость бункера с удобной и быстрой загрузкой в него клубней, исключено внесение минеральных удобрений сажалкой, опрыскивание клубней в сошнике, совмещение посадки с обработкой почвы другими сопутствующими операциями (Пшеченков и др., 2017; Пшеченков, Мальцев, 2008).

Автор для переписки: К.А. Пшеченков
E-mail: konst.pshe4enkov@yandex.ru

Вместимость бункера и способ загрузки в него клубней играют одну из основных ролей в вопросе обеспечения высокой производительности посадочного агрегата. Наиболее простой и производительный способ загрузки – это загрузка из универсальных самосвальных средств в борозде, когда агрегат встанет на рабочий ход (Пшеченков, Давыденкова, 2002).

В ряде хозяйств стали применять сложный посадочный агрегат, состоящий из фрезы для сплошной обработки почвы, сажалки и гребнеобразователя прицепленного за сажалку сзади, в результате загружать клубни в бункер стало возможным только из "биг-бегов", контейнеров или с помощью специальных погрузчиков. Процесс загрузки значительно усложнился, стал машиноёмким и продолжительным по сравнению с самосвальной загрузкой из универсальных самосвальных средств.

Кроме того, повысились затраты времени на повороты и увеличилась ширина поворотной полосы. При испытаниях сменная выработка такого четырёхрядного агрегата не превышала 8-10 гектаров, тогда как обычного в тех же условиях, была на уровне 14-15 гектаров. Для агрегатирования с комбинированным агрегатом требуется энергонасыщенный дорогостоящий трактор, вместо МТЗ-82, используемый при посадке сажалкой типа КСМ-4. Увеличились затраты времени на регулировки, устранения неисправностей и очистку рабочих органов, а самое главное, на загрузку клубней в сажалку. Коэффициент использования времени смены у него был на уровне 0,35-0,4, у агрегата с внесением удобрений и опрыскиванием клубней, но самосвальной загрузкой – 0,45-0,5, а при посадке по гребням с загрузкой из самосвальных средств – 0,6-0,65.

Зарубежными фирмами также предлагается комбинированный агрегат на базе энергонасыщенного трактора с двумя полугусеничными ходовыми системами, включающий фронтально навешенное устройство для фрезерования почвы и внесения удобрений, устройство для опрыскивания, сажалку с гребнеформирователем с загрузкой клубней в бункер с помощью транспортёра (рис. 1).

На суглинистых почвах глубокая заделка клубней при использовании гребнеобразователя, прицепленного к сажалке, кроме усложнения процесса загрузки клубней в сажалку, в холодную и дождливую весну вызывает значительное поражение ростков ризоктониозом. Опыт показывает, что на суглинистых почвах сажать надо мелко – на глубину не более 6 см, а формировать гребни по всходам, когда уже начала развиваться корневая система и образовались на клубнях хорошо развитые ростки.

Особого внимания заслуживает вопрос бесперебойной поставки семенного материала в поле, поскольку простои из-за его отсутствия нередко бывают продолжительными, особенно если отгрузка совмещается с сортировкой и калибровкой клубней на фракции. Полное исключение или значительное сокращение их возможно лишь при предпосадочной подготовке и накоплении откалиброванных клубней в необходимом количестве с отгрузкой в транспортные средства через бункера-компенсаторы (накопители).

Для обоснования эффективного способа внесения минеральных удобрений были проведены специальные сравнительные опыты в сочетании с технологией предпосадочной подготовки почвы и ухода (Пшеченков, Мальцев, 2015).

1. Фрезерование зяби на глубину 12-14 см, нарезка гребней с локальным внесением удобрений, посадка по гребням без внесения удобрений.

2. Фрезерование зяби на глубину 12-14 см, посадка по ровной пашне с локальным внесением минеральных удобрений сажалкой.

3. Культивация зяби на глубину 17 см, посадка по ровной пашне с локальным внесением удобрений сажалкой.

Рис. 1. Загрузка клубней в сажалку с помощью транспортёра, прицепленного к автомобилю с подвижным дном в кузове

Таблица 1. Урожайность, расход топлива, суммарная стоимость машин и расчётная прибыль по вариантам эксперимента

№ п/п	Наименование показателей	Варианты				
		1	2	3	4	5
1	Урожайность, т/га	45,7	39,9	41,4	54,2	51,3
2	Расход топлива на подготовку почвы, нарезку гребней, посадку, внесение удобрений вразброс, междурядную обработку, л/га	95,0	85,0	82,0	76,0	101,0
3	Всего расход топлива на технологию выращивания и уборку, л/га	229,5	219,0	216,0	210,0	235,0
4	Стоимость топлива, тыс. руб./га	8,0	7,7	7,6	7,4	8,2
5	Суммарная стоимость машин, участвующих в исследованиях, тыс. руб./га	26,8	25,4	21,8	22,7	22,3
6	Общие затраты на выращивание и уборку картофеля, тыс. руб./га	192,6	190,9	187,0	187,8	195,7
7	Стоимость товарного урожая, тыс. руб./га	411,0	365,0	367,0	504,0	467,0
8	Расчётная прибыль, тыс. руб./га	218,4	174,0	179,0	316,2	270,0

4. Предпосадочная нарезка гребней по зяби с одновременным рыхлением почвы и локальным внесением минеральных удобрений на глубину 14-15 см в раствор двухъярусной лапы и формированием гребней трёхъярусным стрельчатым окучником.

5. Внесение минеральных удобрений вразброс, перепашка зяби оборотным плугом на глубину 25 см, посадка по ровной пашне без внесения удобрений.

В 1-2 варианте гребни по всходам формировали фрезерным гребнеобразователем, в вариантах 3-5 до всходов и по всходам орудиями с пассивными рабочими органами – сетчатой бороной с одновременным рыхлением междурядий и окучиванием.

Во всех вариантах опытов доза внесения удобрений локально 400, вразброс – 800 кг/га в физическом весе. Удобрение – диаммофоска (10:26:26). Сорт картофеля – ранний, Удача. Почва – средний и тяжёлый суглинок. Средняя урожайность за годы исследований составила соответственно по вариантам 45,7; 39,9; 41,4, 54,2 и 51,3 т/га. Картофель в гребни сажали сажалкой упрощённой конструкции КСМГ-4, по ровной пашне сажалкой КСМ-4А с устройством для локального внесения удобрений. Семенной материал протравливали в стационарных условиях при предпосадочной подготовке (Пшеченков, Смирнов, 2016; Пшеченков и др., 2007).

Из полученных данных следует, что наиболее полно удобрения используются растениями при локальном внесении в гребни при их предпосадочной нарезке (четвёртый вариант), поскольку между ними и высаживаемыми клубнями образуется почвенная прослойка, и к моменту достижения их корневой системой они растворяются под действием почвенной влаги. При внесении сажалкой удобрения практически располагаются на одном уровне с клубнями в борозде, а корневая система уходит вглубь. При внесении вразброс (вариант 5) урожайность получена близкой к четвёртому варианту, но при двойном расходе удобрений (табл. 1).

Применение фрезерной обработки почвы снизило, при одинаковой технологии внесения удобрений, урожайность на 16,3% по сравнению с четвёртым вариантом, а при применении формирования полнообъёмных гребней по всходам фрезерным гребнеобразователем (второй вариант) на 27,8% в связи с тем, что в случае выпадения обильных осадков вслед за посадкой и, особенно, вслед за гребнеобразованием образуется плотная почвенная корка на гребнях значительно задерживающая всходы, а при вегетации на вершинах гребней образуются глубокие продольные трещины.

При пассивной предпосадочной обработке почвы культиватором на глубину 17 см и внесении удобрений сажалкой урожайность снизилась на 24,2%. Прибыль по варианту посадки в гребни с внесёнными удобрениями (четвёртый вариант) составила, в зависимости от года, от 100 до 150 тыс. руб., что при большой площади выращивания составляет значительную сумму. На других вариантах прибыль была в 1,5-2 раза ниже.

Кроме упрощения конструкции сажалки, посадка в гребни имеет и такое преимущество, как возможность посадки групповым способом с работой каждого посадочного агрегата на своём загоне, чего практически нельзя сделать при посадке по ровной пашне. Не требуются маркеры. Нарезка гребней осуществляется одним трактором без участия другого обслуживающего персонала, как при посадке. Загруженный удобрениями тракторный прицеп, например, типа 2 ПТС-4 устанавливается на краю поля, из которого тракторист периодически загружает удобрения в культиватор, оборудованный одним сплошным бункером вместимостью 600-700 кг. При локальном внесении в дозе 400-450 кг/га одного прицепа хватает на 10-12 гектаров. Дополнительная операция многократно окупается различными преимуществами этого способа подготовки почвы и посадки и получаемой прибылью за счёт значительного повышения урожайности.

Не упрощает технологию посадки и конструкцию посадочного агрегата и не повышает его производительность и предложение компании “Grimme” совмещать посадку с одновременным внесением жидких комплексных удобрений (ЖКУ).

Эффективность ЖКУ известна и их целесообразно вносить более производительным способом – при предпосадочной подготовке почвы.

Обработку семенных клубней в сошнике с одной стороны можно рассматривать как положительный фактор, а с другой как отрицательный, поскольку усложняется конструкция сажалки и технология обслуживания, поскольку в поле необходимо везти три компонента, а главное, плотность обработки поверхности клубня не превышает 30-35%, тогда как по агротребованиям плотность обработки должна быть не менее 95%, что достигается при обработке в стационарных условиях. Исследованиями ФГБНУ ВНИИКХ установлено, что действие препарата значительно повышается в случае обработки клубней при предпосадочной подготовке семенного материала.

В России повсеместно применяется четырёхрядная система посадки и выращивания с уборкой двухрядными комбайнами (Пшеченков, Мальцев, 2015). За рубежом наряду с четырёхрядной применяется шестирядная и восьмирядная посадка. Например, фирма “Grimme” выпускает такой набор сажалок. В бывшем Советском Союзе в начале выпускалась шестирядная сажалка СКМ-6, а с постройкой завода “Лидсельмаш” наряду с четырёхрядной полунавесной сажалкой КСМ-4 (КСМ-4А) и для посадки в гребни с внесёнными удобрениями КСМГ-4, выпускались шестирядная КСМ-6 и восьмирядная КСМ-8 с опускающимся бункером. Практический опыт показал, что наиболее эффективной является шестирядная посадка. По сравнению с четырёхрядной у ней производительность повышается на 40-45%. У восьмирядной на 30-35% поскольку у ней выше технологические простои под загрузкой за счёт двойного подъезда самосвального средства, тогда как у шестирядной за один подъезд при задней или боковой загрузке. При шестирядной посадке в сочетании с уборкой трёхрядным комбайном, который в своё время поставлялся в Союз из бывшей ГДР, затраты средств на возделывание и уборку были наименьшими (рис. 2). Для агрегатирования при этой системе вполне подходит сравнительно недорогой трактор МТЗ-82 или типа МТЗ-12.21.

Рис. 2. Приведенные затраты на выращивание и уборку картофеля в зависимости от ширины (рядности) захвата машин. Уборка 2; 4 и 8-рядных посадок двухрядным комбайном; 6-рядных - трёхрядным комбайном.

Таким образом, исходя из вышеизложенного и результатов многолетних исследований, рекомендуем следующую технологию посадки: предпосадочная подготовка семенного материала с протравливанием клубней и накоплением в необходимом количестве до посадки; предпосадочная нарезка гребней по зяби с локальным внесением минеральных удобрений; групповая работа посадочных агрегатов (при больших объёмах выращивания картофеля); посадка сажалкой упрощённой конструкции типа КСМГ-4 с опускающимся бункером с самосвальной загрузкой в него клубней; довсходовый и послевсходовый уход агрегатами с пассивными или активными рабочими органами; комплекс защитных мероприятий против сорняков, вредителей и болезней.

С целью дополнительного повышения производительности и на этой основе выполнять работы в оптимальные сроки рекомендуется сажать картофель шестирядной сажалкой упрощённой конструкции по типу КСМГ-6 с междурядьями 75 и 90 см. Посадка с междурядьями 90 см значительно увеличивает ширину захвата посадочного агрегата, а следовательно и его производительность, что важно для сокращения сроков посадки.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Пшеченков К.А., Мальцев С.В., Смирнов А.В. Технология посадки картофеля на суглинистых почвах в Центральном регионе России // Картофель и овощи. 2017. №9. С. 33-37.

Пшеченков К.А., Давыденкова О.Н. Технологии подготовки семенного материала и посадки картофеля // Тракторы и сельхозмашины. 2002. №8. С. 33-37.

Пшеченков К.А., Мальцев С.В. Технология посадки картофеля // Картофель и овощи. 2008. №2. С. 9-10.

Пшеченков К.А., Смирнов А.В. Оптимизация технологии подготовки почвы и способа внесения минеральных удобрений под картофель // Достижения науки и техники АПК. 2016. № 3. С. 30-32.

Пшеченков К.А., Зейрук В.Н., Седова В.И., Мальцев С.В. Влияние осенней обработки клубней картофеля защитно-стимулирующими веществами на лежкость при хранении и урожайность в последействии // Российская сельскохозяйственная наука. 2007. №1. С. 20-22.

Пшеченков К.А., Мальцев С.В. Уборка, послеуборочная доработка и хранение семенного картофеля // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 4 (55). С. 209-212.

Поступила в редакцию: 15.11.2017
Опубликовано: 15.12.2017

Technology of potato planting

K. A. Pshechenkov, S.V. Maltsev, A.V. Smirnov

Lorh Potato Research Institute; Lorh st., 23, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia.

Abstract

Planting potato is a whole complex of interrelated technological operations which must be performed in a short period of time (no longer than 10-15 days). In solution of this task the main role belongs to the question of maximization of planting unit productivity, which is highest when a planter performs only one operation – planting tubers, and all other related works must be performed by or under stationary conditions or with rupture in time. However, in recent years there has been a reverse trend, namely, the combination in a planting unit such operations as soil preparation, fertilization, processing of tubers during the planting, the formation of short high ridges. All this demands much time for technological maintenance of the combination unit, also requires expensive tractors and, as a consequence, leads to performance degradation and delays. Experience shows that because of delays (what often happens in big scale planting) a significant part of seed tubers has too big sprouts, resulting in downtime, poor seed quality and lower yields.

Therefore potato planting should be performed with a possibly minimal technological delays. This is a difficult task especially in case of potatoes cultivation on loamy soils.

Keywords: potato, planting, planter, performance of the planting unit, fertilizing

Виды рода *Alternaria* и *Colletotrichum coccodes* в листьях картофеля в Европейской части России

Л.Ю. Кокаева[1,3], Г.Л. Белов[3], А.Ф Белосохов[1], И.А. Кутузова[1], Е.М. Чудинова[2], С.Н. Еланский[1,2]

[1] Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. 119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1.
[2] Российский университет дружбы народов. 117198, Россия, ул. Миклухо-Маклая, 6.
[3] Всероссийский научно-исследовательский институт картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха. 140051, Россия, Московская обл., пос. Красково, ул. Лорха, д.23.

Аннотация

В работе с помощью ПЦР с видоспецифичными праймерами исследовано распространение гриба Colletotrichum coccodes и видов рода Alternaria на листьях картофеля с симптомами альтернариоза. Образцы листьев были собраны в 2014-2017 годах в разных регионах Европейской части России. В изученных образцах пораженных листьев картофеля были обнаружены виды Alternaria alternata, A.solani, A.infectoria как по отдельности, так и в составе комплексов A.infectoria + A.alternata, A.solani + A.infectoria. Чаще всего встречался вид A. alternata (sensu lato), который был выявлен в 50% протестированных листьев картофеля (один или в сочетании с другими видами). A.solani и A.infectoria были обнаружены в 30% и 13% образцах соответственно. В 23% листьев, имевших симптомы поражения, видов рода Alternaria не было выявлено. C. coccodes был найден в отдельных листьях, собранных в Северной Осетии, Костромской области и республике Марий Эл.

Ключевые слова: *Colletotrichum coccodes, альтернариоз, Alternaria, болезни картофеля, антракноз*

Для ссылки: *Кокаева Л.Ю., Белов Г.Л., Белосохов А.Ф., Чудинова Е.М., Еланский С.Н. Виды рода Alternaria и Colletotrichum coccodes в листьях картофеля в Европейской части России // Защита картофеля. – 2017. – N4. – С. 27-32.*

Виды рода *Alternaria* являются возбудителями болезней многих культурных растений, например, картофеля, томата, зерновых и многих других. Для альтернариоза характерны округлые некротические пятна на листьях с хорошо выраженной концентричностью, часто окруженные пожелтевшей тканью. В последние годы альтернариоз широко распространился в центральных и южных областях России и Европы. В России на инфицированных листьях картофеля были обнаружены три вида альтернарии: *A. alternata* sensu lato (к этому виду мы относим также *A. tenuissima*, *A. arborescens, A. alternata*), *A. solani*, и *A. infectoria* (Orina et al., 2010, Gannibal, 2007, Elansky et al., 2012).

В некоторых случаях при анализе листьев, несущих типичные для альтернариоза симптомы, грибы рода *Alternaria* не были обнаружены. Возможно, в этих случаях заражение было вызвано другими фитопатогенными грибами. Так, гриб *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Hughes способен вызывать заболевание листьев с симптомами, похожими на альтернариоз. Согласно наблюдениям Tymon и соавторов (2016), при анализе листьев картофеля и томата с симптомами альтернариоза, в 5-10% случаев заболевание было вызвано развитием *C. coccodes.*

Автор для переписки: С.Н. Еланский
E-mail: snelansky@gmail.com

C. coccodes поражает картофель, томат и другие сельскохозяйственные культуры. Большой ущерб *C. coccodes* причиняет клубням картофеля, вызывая отшелушивание кожицы, что значительно ухудшает внешний вид клубней и вызывает потери воды во время хранения. Это заболевание клубней, известное под названием «Черная пятнистость», зарегистрировано в большинстве регионов мира, где выращивается картофель. Развитие заболевания на листьях и других надземных частях растений приводит к массовому развитию спор, которые распространяются на другие органы разбрызгиванием с каплями дождя или поливной воды. При уборке картофеля споры с пораженных листьев и стеблей попадают на поврежденные клубни и заражают их.

Настоящая работа посвящена изучению распространенности *C. coccodes* и видов рода *Alternaria* (*A. solani, A. alternata* и *A. infectoria*) на листьях картофеля в России с помощью ПЦР-диагностики без выделения чистых культур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Пораженные образцы листьев картофеля собирали с коммерческих полей и приусадебных посадок. Всего образцы были отобраны с 17 полей, расположенных в 9 различных регионах России (рис. 1; табл. 2, 3). Образцы собирали в августе-сентябре, когда клубни картофеля достигали товарного размера, а верхняя часть растения оставалась зеленой. При сборе образцов брали не более

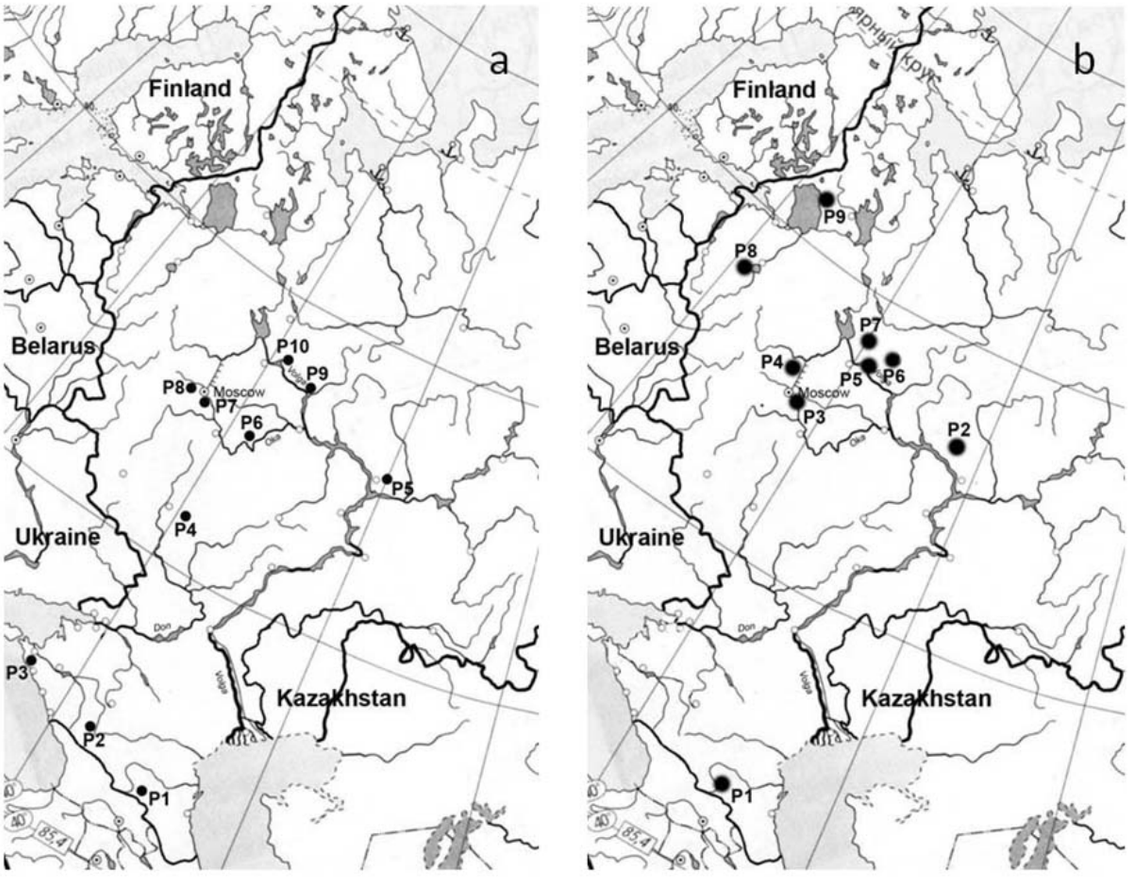

Рис. 1. Места сбора листьев картофеля для выявления: a) *Alternaria* sp. (табл. 2), b) *C. coccodes* (табл. 3)

одного листа с куста, причем выбирали кусты, находящихся друг от друга не ближе 5 м. В каждом месте сбора отбирали для анализа по 20-25 образцов зеленых, не увядших листьев с четкими темными некрозами, похожими на поражение альтернариозом. Сорванные листья немедленно помещали в 70% этиловый спирт, чтобы препятствовать развитию вторичной микобиоты на мертвой ткани. После доставки в лабораторию листья целиком растирали в жидком азоте, после чего лизировали в CTAB буфере. ДНК очищали с использованием хлороформа и хранили в деионизованной воде при −20ºС (Kutuzova et al., 2017). Измерение концентрации и чистоты выделенной ДНК проводили на спектрофотометре «NanoDrop 2000» (“Thermo scientific”, США) при длине волны 260 нм. После определения концентрации рабочий раствор ДНК доводили до 50 нг/мкл.

Амплификацию ДНК проводили в 25 мкл раствора, содержащего около 50 нг ДНК, по 200 мкМ каждого дезоксирибонуклеотидтрифосфата (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), по 0,2 мкМ каждого праймера, 2,5 ед Taq-полимеразы (Евроген, Россия) в буфере, предоставленном производителем Taq-полимеразы. Для проверки контаминации реакционной смеси и эффективности ПЦР в каждый эксперимент включали отрицательный контроль (вода, свободная от ДНК и РНК). Амплификацию проводили на термоциклере Biometra T1. Программа ПЦР включала денатурацию ДНК в течение 3 мин при 94°С, далее 30 циклов: 94°С в течение 30 с, температура отжига согласно таблице 1, 1 (30 с), 72°С (45 с); после прохождения всех циклов 72°С в течение 5 мин. После амплификации ПЦР-продукт разделяли электрофоретически в 1% агарозном геле с добавленным в него бромистым этидием (0,5 мкг/мл) в 0,5× Trisborate EDTA (TBE) при 100В и постоянной мощности в течение приблизительно 1 часа. Визуализировали и фотографировали результаты электрофоретического разделения с использованием UVP ImageStore 7500 UV Transilluminator (UVP Inc., Upland, CA, USA). Для анализа с помощью видоспецифичных праймеров использовали только те образцы, которые показали присутствие грибной ДНК (положительный результат ПЦР с праймерами ITS4/ITS1F).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Наши исследования показали присутствие *C. coccodes* и *Alternaria* sp. на зеленых листьях картофеля с сухим некротическим поражением. A. alternata оказалась самым распространенным видом, выявленном на 10 полях из 8 различных регионов России. Этот вид был выявлен в 50% образцов во всех исследованных районах России (Таблица 2). *A. solani* была идентифицирована в 30% образцов, во всех регионах за исключением Краснодарского края. *A. infectoria* встречалась реже других; она была идентифицирована в 13% образцов. *A. infectoria* отсутствовала в Ставрополье и Рязанской области.

Одновременное присутствие двух видов альтернарии на одном листе зарегистрировано в 16% образцов. Совместное присутствие *A. solani* и *A. alternata* выявлено в 9% образцов из всех регионов,

Таблица 1. Праймеры, используемые в работе

Праймер	Последовательность нуклеотидов	Температура отжига, °С	Специфичность праймеров	Ссылка на литературные источники
ITS4/ITS1F	5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	54°C	Fungi	White *et al*. 1990, Gardes and Bruns 1993
Cc1NF1/ Cc2NR1	5'-TGCCGCCTGCGGACCCCCCT 5'-GGCTCCGAGAGGGTCCGCCA	66°C	*C. coccodes*	Cullen *et al*. 2002
ITS5/MR	5'-GAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 5'-GACCTTTGCTGATAGAGAGTG	50°C	*A. alternata*	Kokaeva et al., 2017
ITS5/SR	5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 5'-CTTGGGGCTGGAAGAGAGCGC	56°C	*A. solani*	
Inf.pr/ Inf.obr	5'-GACACCCCCCGCTGGGGCACTGC 5'-GGTTGGTCCTGAGGGCGGGCGA	56°C	*A. infectoria*	

за исключением Рязанской и Краснодарской областей. Комбинация *A. alternata* и *A. infectoria* была обнаружена у 4% образцов. Совместное присутствие *A. solani* и *A. infectoria* было обнаружено только в 3% образцов. В 23% листьев, имевших симптомы поражения, видов рода *Alternaria* не было выявлено. Ни один из испытуемых образцов не содержал все 3 вида альтернарии.

C. coccodes был обнаружен в 5 образцах из Северной Осетии, Республики Марий-Эл и Костромской области (Таблица 3). В Северной Осетии растения, с которых были собраны образцы, были зелеными и активно вегетировали, только на единичных листьях наблюдались сухие некротические пятна. В республике Марий-Эл (г. Йошкар-Ола) и в Костромской области (Стрельниково) образцы собирали в конце вегетационного периода.

ОБСУЖДЕНИЕ

Присутствие *Alternaria* spp. было выявлено в 235 образцах листьев картофеля из 306 исследованных. Согласно данным Данга с соавторами (Dang et al., 2015), *A. solani* является основным фитопатогенным агентом, поражающим растения семейства пасленовых. В наших исследованиях превалирующим видом оказался мелкоспоровый вид *A. alternata* (sensu lato), этот вид альтернарии был найден в большинстве образцов. Крупноспоровый *A. solani* был обнаружен преимущественно на листьях картофеля, собранных в Центральном регионе России, в то время как в образцах из Краснодарского края он не был обнаружен.

В настоящее время среди исследователей не сложилось единого мнения о том, какой именно вид альтернарии наиболее вредоносен для растения. Некоторые исследователи полагают, что только *A. solani* является патогенным видом (Turkensteen et al., 2010). В этом случае *A. alternata* может быть сапрофитом, колонизирующим поражения листа, вызванным *A. solani*, и, следовательно, представлять вторичную инфекцию. Другие авторы постулируют также и патогенность *A. alternata* (Droby et al., 1984, Zheng et al., 2015). В наших предыдущих исследованиях мы показали возможность заражения листьев картофеля и томата *A. alternata.* На разных сортах вирулентность *A. alternata* существенно отличалась (Kokaeva et al., 2015, Kudryavtseva et al., 2017). Наше исследование также подтверждает, что каждый из видов *A. alternata*, *A. solani*, и *A. infectoria* могут вызывать альтернариоз. В исследованиях Иранских ученых было показано, что *A. infectoria* является причиной ранних поражений листьев картофеля (Ardestani et al., 2010). Американские ученые (Tymon et al., 2016) выделили *A. infectoria* из пораженных альтернариозом листьев картофеля.

В значительной части образцов были представлены одновременно два вида альтернарии, преимущественно в сочетании *A. solani* + *A. alternata*. Ранее другими исследователями также отмечалось совместное выделение *A. solani* и *A. alternata* из поражений с типичными признаками альтернариоза (Bäßler et al., 2004; Latorse et al., 2010); отмечалась и высокая патогенность комплекса *A. solani* + *A. alternata* (Leiminger and Hausladen 2012, 2013). *Alternaria* не была обнаружена в 23% протестированных образцах листьев картофеля с некротическими пятнами; вероятно эти поражения были вызваны другими фитопатогенами.

Наше исследование показало присутствие *C. coccodes* на листьях картофеля, собранного в различных регионах России. Заражение живых искусственно поврежденных листьев картофеля спорами *C. coccodes* показано в работах нескольких исследователей (Nitzan et al. 2006; Johnson, 1994, Mohan et al., 1992). На пораженных листьях наблюдались некротические

Таблица 2. Встречаемость *Alternaria* sp. в листьях картофеля из разных регионов России

Район	Участок отбора проб (Рис. 1а)	Количество проанализированных образцов[a]	Количество образцов, содержащих ДНК:						
			A. solani	*A. alternata*	*A. infectoria*	*A.solani*+ *A.infectoria*	*A.solani* + *A.alternata*	*A.alternata* + *A.infectoria*	Отсутствие ДНК *Alternaria* sp.
Северная Осетия-Алания, Владикавказский район	P1	8	0	1	0	0	5	2	0
Ставропольский край, г. Кисловодск	P2	23	2	14	0	0	1	0	6
Краснодарский край, Анапский район	P3	8	0	4	2	0	0	2	0
Воронежская область, с. Панино	P4	28	8	12	1	2	3	2	0
Рязанская область, Касимовский район	P5	12	3	6	0	0	0	0	3
Татарстан, г. Казань	P6	78	10	25	2	0	3	0	38
Московская область, Люберецкий район	P7	25	9	8	2	1	3	0	2
Московская область, Одинцовский райьн	P8	67	21	17	5	2	9	1	12
Костромская область, Макарьевский район	P9	15	0	11	1	1	1	1	0
Костромская область, село Минское	P10	42	3	17	4	2	2	4	10
Всего		306	56	115	17	8	27	12	71
Всего (%)		100%	18%	37%	6%	3%	9%	4%	23%

а Количество образцов с положительными результатами по праймерам ITS 1F и ITS4

пятна, похожие на поражение альтернариозом, но без концентрических окружностей. По краям некротическое пятно желтело, при дальнейшем развитии болезни листья увядали (Johnson, Miliczky, 1993). Агрессивные изоляты были способны заражать и неповрежденные листья картофеля (Andrivon et al., 1998). Исследование строения видоспецифичных локусов ДНК не выявило различий между штаммами, развивающимися на листьях, стеблях и клубнях картофеля (Kokaeva et al., 2017).

Картофель – высокоурожайная и достаточно дорогая в производстве культура. Стоимость потерь урожая от развития заболеваний весьма высока. Проведенная работа показывает, что защита клубней картофеля требует применения эффективных системных или контактных фунгицидов на стареющей ботве, либо проведения предуборочной десикации. В противном случае при уборке споры с пораженных листьев могут попасть на поврежденные клубни и заразить их.

Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (грант 15-29-02512).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Andrivon D, Lucas JM, Guerin C., & Jouan B. Colonization of roots, stolons, tubers, and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the black-dot fungus *Colletotrichum coccodes*. // Plant Pathology. 1998. 47(4). P. 440-445.

Ardestani ST, Sharifnabi B, Zare R, Moghadam AA. New *Alternaria* species associated with potato leaf spot in various potato growing regions of Iran. // Iranian Journal of Plant Pathology. 2010. 45(4). P. 83-86.

Bäßler E, Asensio N, Leiminger J, Hausladen H, Bahnweg G, Zinkernagel V. Investigations on the appearance and control of *Alternaria solani* and *Alternaria alternata* on potato. // Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt f. Land- & Forstwirtschaft. 2004. 396. P. 100-101.

Cullen DW, Lees AK, Toth IK, Duncan JM. Detection of *Colletotrichum coccodes* from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. // Plant Pathology. 2002. 51(3). P. 281-292.

Dang HX, Pryor B, Peever T, Lawrence C B. The

Таблица 3. Встречаемость *C. coccodes* в листьях картофеля из разных регионов России

Участки отбора проб (Рис. 1b)	Район	Количество проанализированных образцов[a]	Количество образцов, содержащих ДНК *C. coccodes*[b]
P1	Северная Осетия, с. Михайловское	10	1
P2	Республика Мари-Эл, г. Йошкар-Ола	12	3
P3	Московская область, Люберецкий район	24	0
P4	Московская область, Дмитровский район, с. Рогачево	3	0
P5	Костромская область, д. Стрельниково	12	1
P6	Костромская область, Сусанинский район	3	0
P7	Вологодская область, Грязовецкий район, с. Ростилово	12	0
P8	Новгородская область, берег оз. Ильмень	9	0
P9	Карелия, пос. Ляскела	11	0
	Всего	96	5

a Количество образцов с положительными результатами по праймерам ITS 1F и ITS4
b Количество образцов с положительными результатами по праймерам Cc1NF1 и Cc2NR1

Alternaria genomes database: a comprehensive resource for a fungal genus comprised of saprophytes, plant pathogens, and allergenic species. // BMC genomics. 2015. 16(1). P. 239.

Droby S, Dinoor A, Prusky D, Barkai-Golan R. Pathogenicity of *Alternaria alternata* on Potato in Israel. // Phytopathology 1984. 74. P. 537-542. DOI: 10.1094/Phyto-74-537.

Elansky S, Pobedinskaya M, Kokaeva L, Statsyuk N, Alexandrova A. Molecular identification of the species composition of Russian isolates of pathogens, causing early blight of potato and tomato. // In Euroblight. PPO-Special Report N 15, Wageningen University Lelystad, The Netherland. 2012. P.151-156.

Gannibal PhB. Early blight of potato leaves: species composition, taxonomy, and nomenclature of disease agents. // Vestnik Zashchity Rasteniy S. 2007. P. 82-93 (in Russian).

Gardes M, & Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. // Molecular Ecology. 1993. 2(2). P. 113-118.

Johnson DA, Miliczky ER. Effects of wounding and wetting duration on infection of potato foliage by *Colletotrichum coccodes*. // Plant Disease. 1993. 77(1), P.13-17.

Johnson DA. Effect of foliar infection caused by Colletotrichum coccodes on yield of Russet Burbank potato. // Plant Disease. 1994. 78(11). P. 1075-1078.

Kapsa JS. Important threats in potato production and integrated pathogen/pest management. // Potato research. 2008. 51(3-4). P. 385-401.

Kokaeva LY, Kudryavtzeva NN, Pobedinskaya MA, Zaitchik BT, Elansky SN. Virulence of Alternaria alternata strains isolated from different organs of host plants toward different potato and tomato cultivars. // Zasita kartofela. 2015. 1. P. 14-18 (in Russian).

Kokaeva LYu, Belosokhov AF, Skolotneva EC, Doeva LYu, Elansky SN. Distribution of Alternaria species on blighted potato and tomato leaves in Russia. // Journal of Plant Diseases and Protection. 2017. 124(6). DOI: 10.1007/s41348-017-0135-3

Kudryavtzeva NN, Pobedinskaya MA, Kokaeva L Y, Zaitchik BT, Kutuzova IA, Azarkovich MI, Elansky SN, Valueva TA (2017). The proteolytic activity and virulence of Alternaria alternata strains, isolated from tomato. // Mikologiya I Fitopatologiya. 2017. 51(2). P. 110-116 (in Russian).

Kutuzova IA, Kokaeva LY, Pobendinskaya MA, Krutyakov YA, Skolotneva ES, Chudinova EM, Elansky SN. Resistance of *Helminthosporium solani* strains to selected fungicides applied for tuber treatment // Journal of Plant Pathology. 2017. 99(3). P. 635-642. DOI: http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3950

Latorse MP, Schmitt F, Peyrard S, Veloso S, & Beffa R. Molecular analysis of Alternaria populations early blight causal agents in potato plants. // PPO special report N 14. 2010. P. 179-186.

Leiminger J, Hausladen H. Wirkung verschiedener Fungizide auf den Befall der Dürrfleckenkrankheit (Alternaria spp.) sowie auf den Ertrag der Kartoffel. // Gesunde Pflanzen. 2012. 63. P. 11-18.

Leiminger J, Hausladen H. Fungizidresistenz bei Alternaria. // Kartoffelbau. 2013. 5. P. 18- 21.

Mohan SK, Davis JR, Sorensen LH, & Schneider AT. Infection of aerial parts of potato plants by Colletotrichum

coccodes and its effects on premature vine death and yield. // American Potato Journal. 1992. 69(9). P. 547-559.

Nitzan N, Evans M, & Johnson DA. Colonization of potato plants after aerial infection by Colletotrichum coccodes, causal agent of potato black dot. // Plant Disease. 2006. 90(8). P. 999-1003.

Orina AS, Gannibal PB, & Levitin MM. Species diversity, biological characters and geography of Alternaria fungi associated with solanaceous plants. Mikologiya I Fitopatologiya. 2010. 44. P. 150-159.

Pobedinskaya MA, Plutalov PN, Romanova SS, Kokaeva LY, Nikolaev AV, Alexandrova AV, Elansky SN. Resistance of potato and tomato early blight pathogens to fungicides. // Mikologiya I Fitopatologiya. 2012. 46(6). P. 402-408.

Tsror (Lakhim) L, Erlich O, & Hazanovsky M. Effect of Colletotrichum coccodes on potato yield, tuber quality and stem colonization during spring and autumn. Plant Disease. 1999. 83(6). P. 561-565.

Turkensteen J, Spoelder J, Mulder A. With the real Alternaria stand up please – Experiences with Alternaria-like diseases on potatoes during the 2009 season in the Netherlands. In Euroblight. PPO-Special Report N 14. 2010. P. 165-170.

Tymon LS, Peever TL, Johnson DA. Identification and enumeration of small-spored Alternaria species associated with potato in the U.S. Northwest. // Plant Disease. 2016. 100. P. 465-472.

White TJ, Bruns T, Lee SJWT, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (Eds.), PCR - Protocols and Applications - A Laboratory Manual San Diego: Academic Press. 1990. P. 315–322.

Zheng HH, Zhao J, Wang TY, and Wu XH. Characterization of Alternaria species associated with potato foliar diseases in China Plant pathology. 2015. 64(2). P. 425-433.

Поступила в редакцию: 17.11.2017
Опубликовано: 15.12.2017

Alternaria species and Colletotrichum coccodes in potato leaves in European part of Russia

L.Y. Kokaeva[1,3], G.L. Belov[3], I.A. Kutuzova[1], A.F. Belosokhov[1], E.M. Chudinova[2], S.N. Elansky[1,2]

[1]Lomonosov Moscow State University. Leninskiye Gory, 1/12, Moscow, 119234, Russia.
[2]Peoples Friendship University of Russia. Miklukho-Maklaya st., 6, Moscow, 117198, Russia.
[3]Lorh Potato Research Institute; Lorh st., 23, Kraskovo, Moscow region, 140051, Russia.

Abstract

Colletotrichum coccodes and Alternaria species are plant pathogenic fungi affecting different organs of potato, tomato, and some other plants. Species-specific primers were applied for the survey of C. coccodes and Alternaria sp. on affected potato leaves collected in different regions of Russia. All studied Alternaria pathogens were present in blighted leaves alone or in the combinations, such as A. alternata+A. solani, A. infectoria+A. alternata, A. solani+A. infectoria. A. alternata (sensu lato) was the most frequent species revealed in 50% of tested potato leaves (alone or in combination with other species). A. solani and A. infectoria were revealed in 30 and 13% of samples, respectively. The presence of a DNA region specific for C. coccodes was detected in DNA samples isolated from potato leaves collected in the Northern Ossetia, Kostroma region, and Mariy El Republic.

Keywords: *Colletotrichum coccodes, early blight, Alternaria, potato disease, anthracnose*

Новая технология хранения и реализации биологического материала грибов

А.Ф. Белосохов, Л.Ю. Кокаева, С.Н. Еланский, А.Б. Комаров

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. 119991, г. Москва, Ленинские горы, д.1.

Аннотация

В статье рассматривается новый метод хранения и пересылки биологического материала грибов (живой мицелий и споры, выделенная ДНК) на адсорбирующих стекловолоконных мембранах. Проведены эксперименты, показавшие сохранение жизнеспособности адсорбированного живого мицелия и спор в течение 3 месяцев при комнатной (+22°С) *и 6 месяцев при низкой положительной (+4-6*°С) *температуре. ДНК сохранялась в течение 6 месяцев при обеих исследованных температурах. Успешность десорбции ДНК с мембран составляла не менее 50%.*

Ключевые слова: *стекловолоконная мембрана, хранение ДНК, хранение мицелия, хранение спор, ПЦР-диагностика*

Для ссылки: *Белосохов А.Ф., Кокаева Л.Ю., Еланский С.Н., Комаров А.Б. Новая технология хранения и реализации биологического материала грибов // Защита картофеля.– 2017. – 4. – С. 33-37.*

Фитопатогенные грибы и грибоподобные организмы – возбудители многих опасных болезней сельскохозяйственных растений. Для проведения эффективной защиты необходима быстрая и точная идентификация заболеваний вегетирующих растений и семенного материала, прежде всего, на предмет латентных инфекций. Это может быть выполнено с помощью систем быстрой диагностики. Сейчас во многих областных и даже районных центрах есть лаборатории, предоставляющие услуги по ИФА и ПЦР диагностике. В некоторых крупных сельхозпредприятиях есть и собственные хорошо оснащенные диагностические центры.

В современной лабораторной диагностике исследуемый образец должен анализироваться вместе с контрольным, эталонным образцом, что необходимо для установления однозначного соответствия между исследуемым и контрольным образцами. Серьезной проблемой является отсутствие положительного контроля в лаборатории или его плохое качество, что может привести к получению ложноположительных (или наоборот, ложноотрицательных) результатов. В настоящее время единственно возможный путь приобретения качественных контролей – покупка их у зарубежных производителей, что бывает трудно из-за экономических, коммерческих или политических соображений. В результате многие лаборатории работают без положительных контролей, что недопустимо.

Даже при наличии в лаборатории импортных положительных контролей возникает ряд проблем. Импортные образцы и тест-системы часто учитывают только европейские или американские генотипы патогенов, из-за чего при проверке российских популяций получаются ложноотрицательные результаты. Для эффективного контроля фитосанитарного состояния российских агроценозов необходимо импортозамещение контролей и тест-систем. В случае эпифитотийного развития болезней растений их отсутствие может угрожать устойчивому развитию отдельных территорий и отраслей растениеводства.

Цель данной работы – создание новых, дешевых в изготовлении и удобных при транспортировке и хранении контрольных образцов фитопатогенных грибов для нужд диагностических лабораторий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве полимерного носителя биологического материала были взяты стекловолоконные мембраны Grade 8964 (Ahlstrom) с kп (пористость) 0.43 мм и плотностью 75 г/м^2. Такой материал полностью удовлетворял требуемым техническим параметрам (простота стерилизации, устойчивость к ультрафиолетовому излучению, высоким температурам, адсорбционная емкость не менее 40 мг воды на см^2, обратимая десорбция сухих компонентов в растворителе с эффективностью не менее 30%).

Мембраны нарезали на полоски 60х12 мм и укладывали в конверты из фильтровальной бумаги таким образом, чтобы в закрытом положении конверта мембрана была полностью закрыта от внешнего воздействия. Стерилизацию готовых конвертов проводили в сухожаровом шкафу при температуре 90°С в течение 4 часов. Стерильные конверты упаковывали в стерильный полиэтиленовый ZIP-пакет. В таком виде мембраны могут продолжительно храниться в стерильном виде и постоянно готовы к использованию.

Для тестирования способности материала к адсорбции и сохранению свойств живого мицелия, спор и генетического материала грибов в качестве тестовых культур были выбраны изоляты следующих фитопатогенных организмов: *Phytophthora infestans* (коллекционный изолят 08MK-L13A), *Fusarium solani* (16FusMKC22 – спорообразующий штамм; 14KC3 – стерильный штамм), *Colletotrihum coccodes* (C15MLKKуд1), *Alternaria alternata* (A13MTF7/2), *Rhizoctonia solani* (14KCман 18), *Botritis cinerea* (B16PT1). Изоляты были предоставлены депозитарием культур

Автор для переписки: С.Н. Еланский
E-mail: snelansky@gmail.com

Таблица 1. Показатели десорбции

Образец	Перед сорбцией			3 мес хранения			6 мес хранения		
	DNA мкг/мл	260/280	260/230	DNA мкг/мл	260/280	260/230	DNA мкг/мл	260/280	260/230
B. cinerea	220.0	1.96	0.80	122.2	1.90	0.80	182.1	1.91	0.80
R. solani	59.9	1.79	0.99	28.1	1.83	0.97	30.0	1.79	0.98
A. alternata	171.3	2.12	1.74	88.8	2.10	1.75	85.6	2.11	1.75
F. solani	1848.1	2.17	2.37	1000.1	2.12	2.37	986.4	2.10	2.36
P. infestans	127.1	2.12	2.32	46.5	2.08	2.07	62.1	2.05	2.10
C. coccodes	112.9	1.93	1.42	47.6	1.97	1.50	54.4	1.95	1.42

микроорганизмов МГУ имени М.В. Ломоносова.

Тестирование проводили на трех типах биоматериала: тотальная ДНК чистой культуры, смыв спорового материала с твердой среды (для спорообразующих штаммов), мицелий с жидкой среды.

Для получения споровых смывов грибы выращивали на сусло-агаре (150 мл сусла на 1 л среды) при добавлении 15 г агара на 1 л среды. Для получения споровой суспензии споры смывали с чашки Петри стерильным 0,01% раствором tween 80. Для получения жизнеспособных фрагментов мицелия, способных к адсорбции на мембрану, мицелий выращивали на качалке на жидкой гороховой среде при частоте колебаний 220 об/мин. в течение 3-4 сут (Иванова, 1999). Выделение ДНК проводили по стандартной методике с использованием лизирующего CTAB-буфера, с последующей хлороформной экстракцией и осаждением ДНК изопропанолом (Kutuzova et al., 2017). Выделенную ДНК ресуспендировали в деионизованной воде.

Иммобилизацию биологического материала проводили путем адсорбции в виде раствора или суспензии на мембрану-носитель с последующим высушиванием. Расход суспензии спор/мицелия или раствора ДНК составил 150 мкл на полоску. Полоски с нанесенным материалом высушивали в ламинарном боксе.

Хранение мембран происходило в двух условиях: при условии, приближенном к комнатной температуре +22°С (ГОСТ 30494-96 Здания жилые и общественные. Параметры микроклимата в помещениях) и при низкой положительной температуре +4...+6°С.

В ходе экспериментов по хранению были проанализированы свойства адсорбированного материала после 3 и 6 месяцев хранения в заданных условиях. Все эксперименты проводили в 3-х повторностях.

Для проверки сохранения свойств биологического материала при хранении образцов мицелия и спорового смыва применяли высев на питательную среду. Для этого полоски стекловолоконной мембраны с сорбированными на них спорами и мицелием грибов помещали на поверхность питательной среды (сусло-агар) в чашке Петри (рис. 3). Для образцов ДНК проводили десорбцию с мембраны путем смыва деионизированной водой. Для этого полоску помешали одним концом в микропробирку на 2 мл, после чего на верхний край полоски наносили 300 мкл деионизованной воды. Через 20 мин примерно 150 мкл воды с ДНК стекало на дно пробирки, остальная часть оставалась внутри полоски. Измерения конечного количества ДНК в растворе, оказавшемся на дне пробирки, проводили на спектрофотометре «NanoDrop One» (“Thermo scientific”, США) при длине волны 260 нм. Для оценки пригодности десорбированной ДНК для ПЦР проводили амплификации с парами праймеров ITS1F - ITS 4 для грибов (White et al., 1990; Gardes, Bruns, 1993) и ITS5-4 (White et al., 1990) для *P. infestans*.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Хранение ДНК

Качество носителя определяет как сохранение свойств биологического материала при хранении, так и успешность десорбции, эффективность которой для сухих компонентов в растворителе была установлена на уровне не менее 30%. В таблице 1 представлено содержание ДНК в растворах после десорбции. Видно, что средняя эффективность десорбции с мембран для образцов ДНК составляла порядка 50%, т.е. концентрация ДНК в растворе после десорбции снижалась примерно на половину. Показатели чистоты ДНК (параметры 260/280 и 260/230) при этом менялись слабо, т.е. соотношение ДНК и фенолов, нуклеотидов, белков и прочих примесей практически не изменилось в конечном растворе. Показатель 260/280 (примесь белков в растворе) в большинстве случаев после десорбции незначительно снижался, т.е. снижалось количество примесных белков в образце.

Сохранение диагностических свойств проверяли путем отжига ДНК со специфичной для грибов парой праймеров ITS1F-ITS4 (рис. 1). Для оомицета *P. infestans* использовали пару праймеров ITS5-ITS4 (рис. 2)

На рисунке 1 представлена электрофореграмма контрольных амплификаций грибной ДНК с праймерами ITS 1f-ITS4 после 6 месяцев хранения на стекловолоконной мембране при комнатной температуре. Из рисунка видно, что ДНК после хранения сохранила пригодность для ПЦР. После амплификации был получен ПЦР продукт, характерный для соответствующего гриба: около 600 п.о. для *A. alternata*; продукт *R. solani* имел длину фрагментов около 770 п.о.; у *F. solani* и *B. cinerea* длина продукта составила около 570 п.о., у *C. coccodes* – 500 п.о., что соответствует стандартной длине фрагментов этих грибов для данной пары праймеров Manter et al. (2007). Подобная картина сохранялась и для варианта хранения конвертов с адсорбционными мембранами при пониженной температуре.

Проверка сохранения диагностических свойств ДНК *P. infestans* с парой праймеров ITS 5-ITS 4 (Рис. 2) также показала, что при хранении как при комнатной, так и при пониженной температуре генетический материал сохраняет свои свойства и дает ПЦР продукт длинной около 950 bp, что согласуется с данными, полученными Ristaino & Jean (1998) для этой пары праймеров.

Хранение мицелиального и спорового материала

Результаты хранения культур в виде мицелиального и спорового материала представлены в таблице 2. Эксперименты по хранению не выявили разницы в сохранении жизнеспособности между мицелиальным материалом с жидкой среды и смывами спор с твердой среды для спорообразующих культур. Очевидно также, что как при смывах суспензий с твердой среды, так и при выращивании культур на жидкой среде в адсорбируемый материал так или иначе попадают оба типа пропагул (споры и обрывки мицелия), поэтому разделение на «споры» и «мицелий» в данном эксперименте можно считать относительно условным.

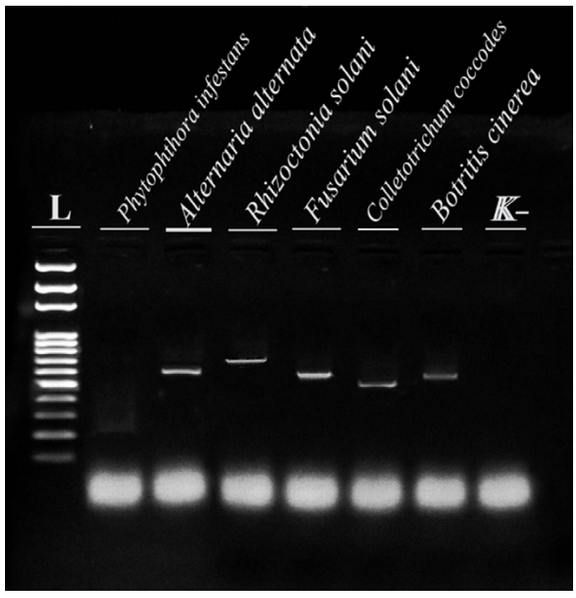

Рис. 1. Электрофореграмма контрольных амплификаций десорбированной с мембран ДНК с праймерами ITS1f/ITS4 на грибную ДНК после 6 месяцев хранения при +22°С. L – ДНК-маркер с шагом 100 п.о., K- отрицательный контроль.

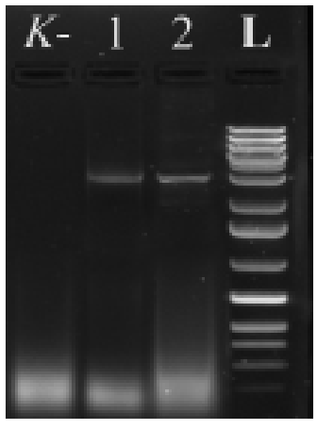

Рис. 2. Электрофореграмма контрольных амплификаций десорбированной с мембран ДНК *P. infestans* **с праймерами ITS4/ITS5 на грибную ДНК после 3 (1) и 6 (2) месяцев хранения.** L – ДНК-маркер с шагом 100 п.о., K- отрицательный контроль.

В ходе эксперимента обнаружено, что оомицет *P. infestans* плохо переносит высушивание и адсорбцию и его пропагулы начинают терять жизнеспособность уже после 3 месяцев хранения в условиях пониженной температуры.

Пропагулы грибов при адсорбции на стекловолоконные мембраны успешно выживали до 3 месяцев при хранении в обычных комнатных условиях, и не менее 6 месяцев при хранении в холодильнике (рис. 3). В процессе адсорбции и высушивании «на воздухе» в ламинарном боксе не нарушалась чистота материала. Доля контаминированных мембран была низка (2 образца из 120).

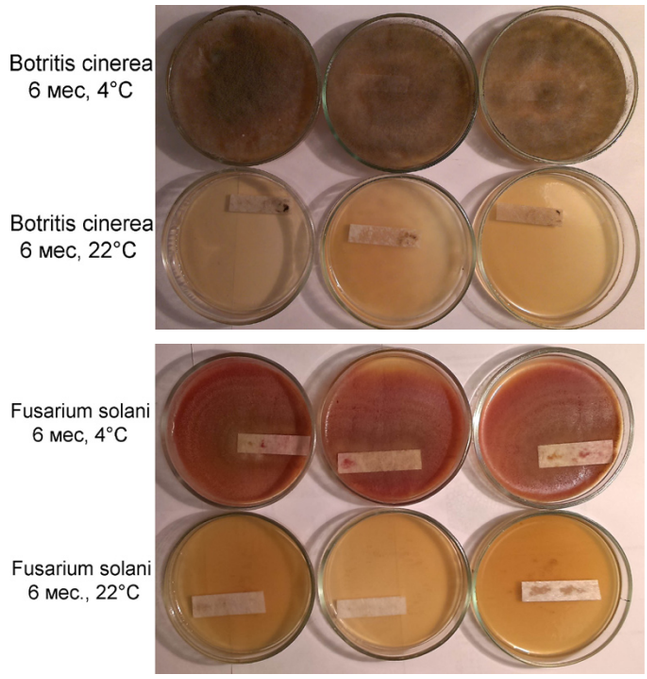

Рис. 3. Оценка выживаемости биоматериала (адсорбированные споры) штаммов *B. cinerea* **и** *F. solani.*

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что живой материал грибов может храниться на мембранах до трех месяцев в условиях комнатной и до 6 месяцев в условиях пониженной температуры. ДНК хранится на мембранах по меньшей мере 6 месяцев при любых условиях. Это позволяет предложить использование стекловолоконных мембран для краткосрочного хранения коллекций и для пересылки.

В настоящее время для хранения и пересылки используемых в диагностике контрольных образцов обычно используется лиофилизация (Белякова и др., 1967). Это сложный технологический процесс, требующий тщательной подготовки препарата к сушке, создания высокого вакуума для полноты высыхания, длительной сушки и достаточно высоких энергозатрат. Многие виды грибов и оомицетов не выдерживают лиофилизации. Другой используемый метод – транспортировка живых объектов на питательных средах (Промышленная микробиология, 1989). Метод достаточно сложный, т.к. требует поддержания условий температуры и влажности,

Таблица 2. Результаты экспериментов по хранению спор и мицелия на мембранах

Культура		3 месяца		6 месяцев	
		4°C	21°C	4°C	21°C
Botritis cinerea	Споры	1	1	1	0
		1	0	1	0
		1	1	1	0
	Мицелий	1	0	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
Rhizoctonia solani	Мицелий	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
Fusarium solani *(спорообразующий штамм)*	Споры	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
	Мицелий	1	1	1	0
		K	1	1	0
		1	1	1	0
Coletotrihum coccodes	Споры	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
	Мицелий	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
Alternaria alternata	Споры	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	0
	Мицелий	1	1	1	0
		1	1	1	0
		1	1	1	K
Phytophthora infestans	Мицелий	1	0	0	0
		1	0	0	0
		0	0	0	0

Прим: 1 – биоматериал сохранил жизнеспособность; 0 – биоматериал не проявил жизнеспособности при отсевании на питательную среду; K – контаминация биоматериала.

не допускает замораживания культур; нарушение целостности упаковки приводит к потере стерильности и росту неспецифических живых организмов.

Стекловолоконные мембраны не требуют высокотехнологичного оборудования и энергозатрат при изготовлении высушенных образцов грибов. Их компактность и сохранение жизнеспособности материала в условиях комнатной температуры делают их привлекательными для использования в качестве носителя при транспортировке образцов.

Работа поддержана грантом Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (договор 9787ГУ/2015).

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

Белякова Л.А., Лаврова Л.Н., Кудрявцев В.И. Хранение культур грибов / Методы хранения коллекционных культур микроорганизмов. Институт микробиологии АН СССР / Отв. ред. Красильников Н.А. М.: Наука, 1967. С. 7-55.

Иванова А.Е. Жизнеспособность фрагментов мицелия почвенных микроскопических грибов в разных экологических условиях: дис. ... канд. биол. наук. МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, 1999.

Промышленная микробиология. / Под ред. Н.С. Егорова. М. Высшая школа, 1989. С. 149-167.

Gardes M., Bruns T. D. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts //Molecular ecology. 1993. Т. 2. №. 2. С. 113-118.

Kutuzova IA, Kokaeva LY, Pobendinskaya MA, Krutyakov YA, Skolotneva ES, Chudinova EM, Elansky S N. Resistance of *Helminthosporium solani* strains to selected fungicides applied for tuber treatment // Journal of Plant Pathology. 2017. 99(3). P. 635-642. DOI: http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3950

Manter DK, Jorge M.V. Use of the ITS primers, ITS1F and ITS4, to characterize fungal abundance and diversity

in mixed-template samples by qPCR and length heterogeneity analysis // Journal of Microbiological Methods. 2007. 71(1). P. 7-14.

Ristaino JB, Madritch M, Trout CL, and Parra G. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen genus *Phytophthora* // Applied and Environmental Microbiology. 1998. 64(3). P. 948-954.

White T.J., Bruns T., Lee S.J.W.T., & Taylor J.W. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (Eds.), PCR - Protocols and Applications - A Laboratory Manual San Diego: Academic Press. 1990. P. 315–322.

Поступила в редакцию: 02.12.2017
Опубликовано: 15.12.2017

New technology of storage and implementation of biological material of fungi

A.F. Belosokhov, L.Y. Kokaeva, S.N. Elansky , A.B. Komarov

Lomonosov Moscow State University. Leninskiye Gory, 1/12, Moscow, 119234, Russia

Abstract

The article considers a new method for storage and transfer of biological material of fungi (living mycelium and spores, isolated DNA) on fiberglass membranes. The adsorbed material was stored into the membranes at room (+22°C) and refrigeration (+4°C) temperature for 6 months. The experiments showed that the living mycelium and spores remained viable for 3 months at room temperature and 6 months at refrigeration temperature; DNA persisted for 6 months under any conditions, the success of DNA desorption from the membranes was more than 50%.

Keywords: *fiberglass membranes, storage of DNA, storage of biomaterial, PCR diagnostics*