

На правах рукописи

КИРИЛЛОВА
Ольга Сергеевна

**СЕМИОХИМИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И ИНДУЦИРОВАННЫЕ
ЗАЩИТНЫЕ РЕАКЦИИ В РАСТЕНИЯХ ОГУРЦА ПРИ
ПОВРЕЖДЕНИИ ФИТОФАГАМИ**

Шифр и наименование специальности:
03.02.05 - ЭНТОМОЛОГИЯ

АВТОРЕФЕРАТ
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
ПУШКИН
2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР)

Научные руководители:

Буров Владимир Николаевич

доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент РАСХН

Тютюрев Станислав Леонидович

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»,
Заслуженный деятель науки РФ

Официальные оппоненты:

Радченко Евгений Евгеньевич

доктор биологических наук,
заведующий отделом генетики ФГБНУ
«Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н.И. Вавилова»

Семенова Алла Георгиевна

кандидат биологических наук,
доцент кафедры защиты и карантина растений
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет»

Ведущая организация:

**Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Всероссийский научно-исследовательский
институт биологической защиты растений»**

Защита диссертации состоится « 2 » июля 2015 года в 11 часов
на заседании диссертационного совета Д 006.015.01
на базе Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений по адресу:
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д.3.
Тел.: (812)-470-43-84
e-mail: info@vizr.spb.ru
Web-сайт: vizr.spb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений».

Автореферат разослан « » 2015г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Наседкина Галина Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Информационно-химическое взаимодействие между продуцентами и консументами разного порядка играет одну из главных ролей в обеспечении стабильности экосистем. Усиление воздействия человека на окружающую среду часто приводит к разрушению сложных биоценологических связей и регуляторных механизмов в природных сообществах и создаваемых человеком агробиоценозах. Создание химических средств защиты растений на основе семиохемиков - аналогов природных соединений, обладающих не биоцидной, а регуляторной активностью (Буров, Новожилов, 2001), является одним из важных направлений разработки повышения токсикологической и экологической безопасности современных средств защиты растений. Перспективное направление работ по изучению и использованию семиохемиков связано с феноменом стимулирования механизмов химической защиты растений в ответ на их повреждение фитофагами. Наиболее выраженные проявления ответной реакции растений на повреждение членистоногими: отвергание фитофагами растения при возможности выбора (антиксеноз), неблагоприятное воздействие на жизнеспособность фитофагов при питании (антибиоз), привлечение энтомофагов на поврежденное растение. Особенностью ответной реакции растений на повреждение фитофагами является ее видоспецифичность, которая определяется систематической принадлежностью, как вредителя, так и растения, морфофизиологическим состоянием растения и степенью его повреждения фитофагами.

Работа в этом направлении позволит усовершенствовать существующие системы защитных мероприятий в агробиоценозах за счет использования, как природных биологически активных соединений, изменяющих пищевое поведение консументов и влияющих на жизнеспособность фитофагов, так и их синтетических аналогов, которые могут широко применяться в защищенном грунте. Увеличение масштабов применения препаратов, индуцирующих устойчивость растений к биотрофам (иммуномодуляторов), требует разработки комплексной оценки их влияния на фауну вредных и полезных членистоногих, обитающих в защищаемых агробиоценозах. Детальное изучение ответных реакций растения на повреждение фитофагами и обработку иммуномодуляторами является актуальным для разработки научно обоснованной стратегии использования индуцированной устойчивости растений к фитофагам как элемента интегрированной защиты в целях оптимизации фитосанитарного состояния агроэкосистем.

Степень разработанности темы исследования. Развитие представлений об индуцированном фитоиммунитете было начато в нашей стране в первой половине XX столетия (Вавилов, 1935). Исследовательская работа рубежа XX-XXI веков (Рубин и др., 1975; Шапиро, 1979; Озерецковская, 1994; Тарчевский, 2002) продолжается и по настоящее время (Вилкова, Конарев, 2010; Буров и др, 2012; Тютерев, 2014). Достаточно хорошо исследованы реакции индуцированной устойчивости растений в области фитопатологии, результатом чего являются созданные на основе элиситоров препараты под названиями «регуляторы роста растений», «индукторы устойчивости» или «иммуномодуляторы» (Тютерев, Евстигнеева, 1997; Тютерев, 2002). Значительно меньшее внимание в нашей стране уделяется реакциям индуцированной устойчивости растений к вредителям.

Цель работы: выявить особенности семиохимических взаимодействий в системе триотрофа при формировании в огурце посевном *Cucumis sativus* L. защитных химических реакций.

В соответствии с поставленной целью решали следующие **задачи**:

1. Изучить особенности пищевого поведения при консортных взаимодействиях фитофагов на растениях, поврежденных членистоногими вредителями.
2. Исследовать антибиотическое воздействие поврежденного кормового растения на вторично заселяющих фитофагов.
3. Оценить антиксенотическое и антибиотическое воздействие на фитофагов растений, обработанных иммуномодуляторами.
4. Выявить особенности поведения энтомофага при повреждении растений фитофагами и обработке иммуномодуляторами.

Научная новизна. Впервые описаны реакции ольфакторной и контактно-вкусовой ориентации калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* Pergande, оранжевой белокрылки *Trialeurodes vaporariorum* Westwood, паутинного клеща *Tetranychus urticae* Koch и хищного клопа ориуса *Orius laevigatus* Fiebr на всходы огурца посевного с разной степенью повреждения фитофагами, как семядольных листьев, так и первого настоящего листа. Показано, что при питании личинок калифорнийского трипса на огурце посевном происходит сокращение заселения растений особями своего вида, а также паутинным клещом, но не изменяется пищевое поведение оранжевой белокрылки. Продемонстрировано, что ответной реакцией огурца посевного на питание имаго оранжевой белокрылки является антиксенотическое и антибиотическое воздействие растений на белокрылку и калифорнийского трипса. Установлено, что обработка всходов огурца посевного хитозансодержащими индукторами устойчивости, как Хитозаром М 7% в.р.к., так и Хитозаром Ф 7% в.р.к., не изменяет привлечение хищного клопа ориуса к растениям в отличие от повреждения растений паутинным клещом и калифорнийским трипсом. Выявлены изменения качественного и количественного состава летучих органических соединений (ЛОС) в экстрактах листьев огурца посевного при обработке растений иммуномодуляторами Хитозаром М 7% в.р.к., Хитозаром Ф 7% в.р.к., Цирконом, Иммуноцитифитом. Показано, что жасмонатный сигнальный путь формирования защитных реакций является преобладающим в обеспечении устойчивости огурца посевного к калифорнийскому трипсу.

Теоретическая и практическая значимость. Данные об особенностях пищевого поведения у калифорнийского трипса, оранжевой белокрылки, паутинного клеща и хищного клопа ориуса, выявленные при формировании в огурце посевном защитных химических реакций, индуцируемых, как повреждениями фитофагов, так и иммуномодуляторами, пригодны для разработки научно обоснованной стратегии использования индуцированной устойчивости растений к фитофагам в защите растений. Антиксенотическое и антибиотическое воздействие огурца посевного на калифорнийского трипса при обработке растений Хитозаром Ф 7% в.р.к., равно как и Иммуноцитифитом, показывает возможность применения этих иммуномодуляторов в качестве элемента в системе интегрированной защиты огурца.

Методология и методы исследования. Работу проводили с использованием традиционных энтомологических методов: культивирования насекомых в лаборатории, оценки численности дочернего

поколения фитофагов, ольфактометрических исследований дистантной и контактно-вкусовой ориентации членистоногих. Определение летучих органических соединений в растительных экстрактах осуществляли методом газохроматографического и масс-спектрометрического химического анализа.

Положения, выносимые на защиту.

1. Калифорнийский трипс, оранжерейная белокрылка и паутинный клещ при питании на всходах огурца посевного изменяют ольфакторные и контактно-вкусовые реакции фитофагов, вторично заселяющих поврежденное растение. Характер изменений зависит от вида фитофага, фазы развития и степени повреждения растения.
2. При питании на огурце посевном калифорнийского трипса, равно как и оранжерейной белокрылки, а так же паутинного клеща, происходит антибиотическое воздействие поврежденного растения на вторично заселяющих членистоногих вредителей.
3. Жасмонатный путь формирования защитных реакций является преобладающим в обеспечении устойчивости огурца посевного к калифорнийскому трипсу.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных данных доказывается высокой степенью воспроизводимости результатов экспериментов и стандартными методами математического анализа полученных результатов.

Основные материалы диссертации были представлены на первой Всероссийской конференции по иммунитету растений к болезням и вредителям (2-8 июля 2002 г., Санкт-Петербург), VII международной конференции «Современные перспективы в использовании хитина и хитозана» (15-18 сентября 2003 г., Санкт-Петербург - Репино), второй Всероссийской конференции «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам» (29 сентября - 2 октября 2008 г., Санкт-Петербург.).

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 4 работы в изданиях, рекомендованных ВАК Российской Федерации (2 - в Энтомологическом обозрении и 2 - в Вестнике защиты растений).

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 159 страницах машинописного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 26 рисунками. Список литературы включает 295 источников, из них 214 на иностранных языках.

Благодарности. Я выражаю искреннюю благодарность научным руководителям работы: ушедшему из жизни моему первому руководителю д. б. н., член-корреспонденту РАСХН проф. Бурову Владимиру Николаевичу за идею работы, ее научно-методическое руководство, а также за большой вклад в формирование моего научного опыта, и Заслуженному деятелю науки РФ проф. Тютереву Станиславу Леонидовичу за всестороннюю помощь и ценные советы при выполнении работы. Особую признательность хочу выразить д. с.-х. н., Заслуженному деятелю науки РФ проф. Вилковой Нине Александровне и сотрудникам лаборатории сельскохозяйственной энтомологии ФГБНУ ВИЗР за многочисленные ценные рекомендации, сделанные при написании рукописи. Глубоко признательна д. х. н. Савельевой Елене Игоревне из лаборатории общей токсикологии и гигиенического нормирования НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства за

определение летучих органических соединений методом газохроматографического разделения и масс-спектрометрического анализа. Автор искренне признателен к б. н. Шамшеву Игорю Васильевичу и проф. д. б. н. Фролову Андрею Николаевичу и своим коллегам по лаборатории сельскохозяйственной энтомологии сектора «регуляторов роста, развития и поведения насекомых» ФГБНУ ВИЗР за оказанную помощь, ценные советы и дружескую поддержку в процессе работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Представлен аналитический обзор современного состояния, дальнейших перспектив научных исследований и практического применения реакций индуцированной устойчивости растений к фитофагам в защите растений.

Глава 2. Материал и методы исследований

2.1 Объекты исследования.

Объекты исследования: огурец посевной *Cucumis sativus* L. (сем. *Cucurbitaceae*, голландский гибрид *Фларри*), паутинный клещ *Tetranychus urticae* Koch (отр. *Trombidiformes*, сем. *Tetranychidae*), калифорнийский трипс *Frankliniella occidentalis* Pergande (отр. *Thysanoptera*, сем. *Thripidae*), оранжевая белокрылка *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (отр. *Hemiptera*, сем. *Aleyrodidae*), хищный клоп ориус *Orius laevigatus* Fiebr (отр. *Hemiptera*, сем. *Anthocoridae*). Исследования проводили на растениях в фазе семядольных листьев и фазе первых двух настоящих листьев. Фитофаги, используемые в работе, имеют колюще-сосущий ротовой аппарат, но различаются по гистотропности. Популяцию фитофагов разводили на этом же гибриде огурца. Ориуса разводили на яйцах комнатной мухи, паутинном клеще, тли и цветочной пыльце (Степанычева, Щеникова, 2002).

2.2 Методы индуцирования защитных химических реакций в растении

В серии экспериментов по оценке проявления защитной реакции огурца на повреждающее воздействие фитофагами, растения в фазе семядольных листьев и первого настоящего листа отдельно заселяли членистоногими вредителями при разной нагрузке особей на растение. Для клеща нагрузка составила 8 и 16 клещей на растение на 3 дня, для трипса - 4 и 8 личинок на растение на 3 дня, для белокрылки – 10 и 25 имаго на растение на 3 дня.

Растения дорастивали в течение 2 дней в изоляторах для предотвращения повторного заселения вредителями. Контролем являлись неповрежденные растения, морфофизиологическое состояние которых и абиотические условия выращивания были аналогичны опытным экземплярам.

Для формирования в огурце посевном защитных механизмов с помощью иммуномодуляторов использовали препараты: хитозансодержащие индукторы болезнеустойчивости Хитозар М и Хитозар Ф (7% водорастворимые концентраты эмульсии (в.р.к.) по действующему веществу хитозану, в работе использовали 0,1%-ный по ДВ раствор препаратов), Циркон (ДВ – раствор гидроксикоричных кислот в спирте 0,1 г/л, в работе использовали раствор препарата в концентрации 50 мкл/л), Иммуноцитифит (ДВ - этиловый эфир арахидоновой кислоты, в работе использовали раствор

препарата 1/4 таблетки на 400 мл воды). С помощью лабораторного микроопрыскивателя семядольные листья или первый настоящий лист (в зависимости от цели опыта) обрабатывали рабочим раствором одного из препаратов. Контрольные образцы обрабатывали водой. Через 48 часов растения использовали в экспериментах.

В работе во всех опытах оценивали только системную иммунологическую реакцию.

2.3 Методы оценки проявления защитных химических реакций огурца посевного по дистантной и контактно-вкусовой ориентации консументов

Одними из критериев оценки проявления защитных химических реакций огурца посевного на повреждение фитофагами и обработку растений иммуномодуляторами являлись дистантная и контактно-вкусовая ориентация консументов на растения. В работе использовали 4^х-камерный ольфактометр (Pettersson, 1970), 2-х камерный ольфактометр (Shamshev et al., 2003) и метод садкового эксперимента (Буров и др., 2005). Число используемых насекомых в каждой повторности в ольфакторных опытах составляло 8-10 экземпляров, в садковых – 25-30 экземпляров. Эксперименты проводили в 10 повторностях.

Уровень привлечения опытных и контрольных растений для тест-объектов оценивали по "индексу агрегации", который определяли по формуле: $ИА = (O - K) / (O + K) \times 100$, где O - количество особей в опытной зоне, а K - количество особей, сконцентрировавшихся в контрольной зоне (Закладной, 1983). Положительный знак индекса при учете достоверных различий с контролем указывает на аттрактивное действие тестируемого образца, отрицательный – на репеллентное, при отсутствии достоверных различий между средними значениями в опыте и контроле – нейтральное действие.

2.4 Методы оценки численности потомства фитофагов при формировании в огурце посевном индуцированных защитных химических реакций.

Оценку численности потомства фитофагов при формировании в огурце посевном индуцированных защитных химических реакций, осуществляли по показателям: для паутинного клеща – суточной плодовитости самок, для калифорнийского трипса - количеству личинок второго возраста, для оранжевой белокрылки – количеству личинок четвертого возраста. Для определения снижения численности потомства фитофагов (СЧП) использовали формулу: $СЧП = [(кол-во особей в контроле - кол-во особей в опыте) / кол-во особей в контроле] \times 100, \%$ (Степанычева и др., 2007)

2.5. Определение летучих органических соединений в экстрактах листьев огурца посевного.

Образцы растительных экстрактов анализировали с использованием ГХ-МС спектрометрии. Работа выполнена на приборном комплексе GCMS-QP5000 Шимадзу (Япония). Работа выполнена совместно с д.х.н. Савельевой Е.И. в лаборатории общей токсикологии и гигиенического нормирования НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека Федерального медико-биологического агентства.

Использованы стандартные методы статистического анализа. Достоверность различий средних проверяли по t-критерию или используя ANOVA анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Глава 3. Семиохимические взаимодействия консументов с кормовым растением при повреждении огурца посевного фитофагами

3.1. Особенности семиохимических взаимодействий при повреждении огурца посевного калифорнийским трипсом

Результаты наших экспериментов показали, что при питании личинок калифорнийского трипса в огурце посевном развиваются ответные реакции, изменяющие пищевое поведение фитофагов и влияющие на численность их дочернего поколения. Оценка влияния повреждения растений огурца личинками калифорнийского трипса на ориентировочно-исследовательскую деятельность имаго калифорнийского трипса, паутинного клеща и имаго оранжерейной белокрылки показала, что, если для оранжерейной белокрылки было характерно отсутствие достоверных различий опыта с контролем (при уровне вероятности $p \leq 0,05$), то имаго калифорнийского трипса и паутинный клещ продемонстрировали ярко выраженное предпочтение неповрежденных растений. В наибольшей степени репеллентная реакция трипса и клеща на поврежденные растения проявлялась при питании 8 личинок трипса в течение 3 суток на семядольных листьях: распределение трипсов между опытом и контролем составило $29,1 \pm 6,2$ % и $51,5 \pm 5,2$ % соответственно, распределение клещей между опытом и контролем составило $36,2 \pm 4,2$ % и $57,4 \pm 5,1$ % соответственно, при этом индекс агрегации трипса и клеща составил -27,8% и -22,7% соответственно).

Выявлено, что при питании личинок калифорнийского трипса на огурце посевном происходит антибиотическое воздействие поврежденных растений на вторично заселяющих, как особей своего вида, так и на паутинного клеща и оранжерейную белокрылку. Максимальное снижение численности потомства данных фитофагов выявлено при повреждении трипсом первого настоящего листа нагрузкой 8 личинок на 3 дня и составило для трипса 36,1% (Рисунок 1), для клеща и белокрылки 37,1% и 45,2% соответственно (Рисунок 2) (при уровне вероятности $p \leq 0,05$ %).



Рисунок 1. Влияние повреждений калифорнийским трипсом огурца посевного на численность дочернего поколения данного фитофага.

степень повреждения листьев:
низкая – при нагрузке фитофага 4 личинки на растение на 3 дня,
высокая – 8 личинок на растение на 3 дня.

*- достоверность различий при $p \leq 0,05$ %



Рисунок 2. Влияние повреждений растений калифорнийским трипсом на численность дочернего поколения паутиного клеща и оранжевой белокрылки.

степень повреждения листьев: низкая – при нагрузке 4 личинки на растение на 3 суток, высокая – 8 личинок на растение на 3 суток.

*- достоверность различий при $p \leq 0,05\%$

3.2. Особенности семиохимических взаимодействий фитофагов при повреждении огурца посевного оранжевой белокрылкой

Исследования по оценке влияния питания оранжевой белокрылки на растениях огурца на вторичное заселение растений, как особями своего же вида, так и другими фитофагами, в частности калифорнийским трипсом и паутиным клещом, показала, что ответная реакция растений проявляется при нагрузке белокрылки 25 имаго на растение на 3 суток. Выявлено, что происходит репеллентное действие поврежденных растений на имаго калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки, но не изменяется привлечение к растениям паутиного клеща (Рисунок.3).

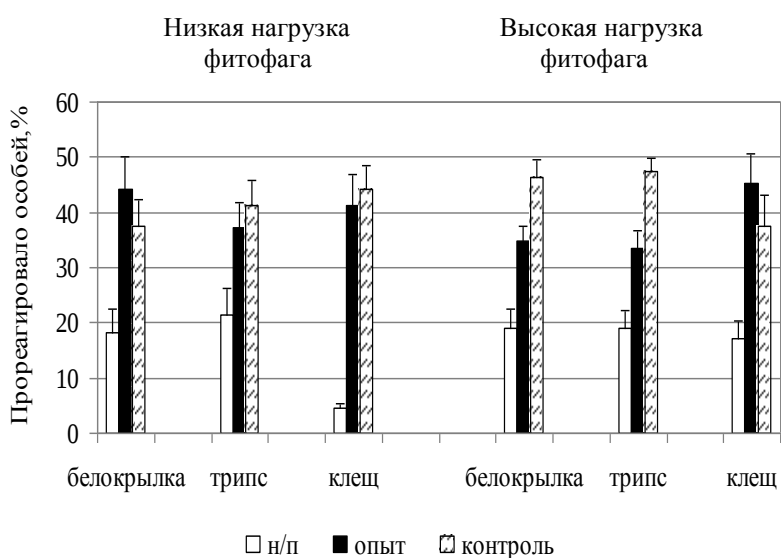


Рисунок 3. Контактно-вкусовая ориентация фитофагов на всходы огурца посевного, поврежденные оранжевой белокрылкой.

низкая нагрузка фитофага – 10 имаго на растение на 3 суток, высокая нагрузка фитофага – 25 имаго на растение на 3 суток; н/п – не прореагировало особей, опыт – особей на поврежденном растении, контроль – особей на неповрежденном растении

Репеллентная реакция фитофагов сопровождалась снижением численности их потомства (для белокрылки и трипса снижение численности потомства составило 35,9% и 31,3% соответственно).

3.3. Особенности семиохимических взаимодействий фитофагов при повреждении огурца посевного паутинным клещом

Установлено, что при питании паутинного клеща на огурце посевном, как на семядольных листьях, так и на первом настоящем листе при нагрузке фитофага 16 экземпляров на растение на 3 дня, происходит репеллентное действие растений на особей данного фитофага при вторичном заселении (индекс агрегации при повреждении семядольных листьев и первого настоящего листа составил соответственно -24,4% и -35,6%). При этом в обоих вариантах наблюдалось снижение численности дочернего поколения на 42% в сравнении с контролем (Таблица 1).

Таблица 1.

Контактно-вкусовая ориентация и численность дочернего поколения паутинного клеща при повреждении всходов огурца посевного этим же видом фитофага

Нагрузка фитофага, экземпляров /растение на 3 суток	Доля прореагировавших особей, X±SE,%		ИА, %	Плодовитость, яиц\самку\день, X±SE шт.		СЧП,%	Численность дочернего поколения, Σ яиц и живых особей дочернего поколения, шт		СЧП, %
	Опыт	Контроль		Опыт	Контроль		Опыт	Контроль	
Повреждение семядольных листьев									
8	60,4±10,3 s	39,6±5,1	20,8	11,5±4,2 n	12,6±3,3	8,7	110±15,1 n	123±11,8	10,6
16	37,7±8,3 s	62,2±7,4	-24,4	7,4±3,4 s	13,3±2,2	44,4	96±16,2 s	167±13,3	42,5
Повреждение первого настоящего листа									
8	55,6±4,2 n	44,4±8,2	11,2	12,1±0,8 s	14,6±1,1	17,1	105±15,1 s	148±11,1	29,1
16	32,4±6,4 s	67,7±4,6	-35,6	9,7±2,7 s	14,3±2,9	32,2	143±22,3 s	249±10,6	42,6

s – достоверное различие данных с контролем при уровне вероятности $p \leq 0,05$ %

n – отсутствие достоверных различий в опыте по сравнению с контролем при уровне вероятности $p \leq 0,05$ %

Однако, при заселении семядольных листьев паутинным клещом в количестве 8 экземпляров на растение на 3 дня происходит привлечение особей этого же вида на поврежденные растения (индекс агрегации клеща на поврежденных растениях составил 20,8% при уровне вероятности $p \leq 0,05$ %).

Ольфакторными и садковыми экспериментами показано, что существует зависимость степени заселения огурца посевного калифорнийским трипсом и оранжевой белокрылкой от нагрузки паутинного клеща на семядольные и настоящие листья. В частности, при нагрузке клеща 8 экземпляров на семядольные листья на 3 дня обнаружена репеллентная реакция данных вредителей на поврежденные растения (индекс агрегации трипса и белокрылки составил соответственно -37,4 % и -38,4%)(Рисунок 4). Она сопровождалась снижением численности дочернего поколения калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки, которое в обоих случаях составило 32% в сравнение с контролем. Однако, при повреждении паутинным клещом семядольных листьев в количестве 16 особей на 3 дня, а также первого настоящего листа в количестве 8 особей на 3 дня) происходит привлечение калифорнийского трипса (индекс агрегации составил 22,8% и 20,5 соответственно).

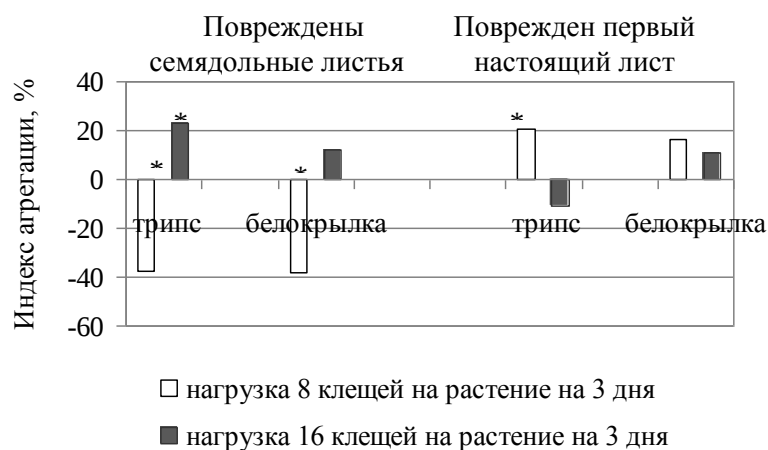


Рисунок 4. Контактно-вкусовая ориентация имаго калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки на растения огурца посевого, поврежденные паутиным клещом.

*- достоверное различие данных с контролем при уровне вероятности $p \leq 0,05$

Можно предположить, что выявленная нами диаметрально противоположная реакция паутиного клеща на растения огурца (при повреждении семядольных листьев нагрузкой 8 и 16 экземпляров на растение), а также различная реакция калифорнийского трипса на поврежденные клещом растения, демонстрируют способность паутиного клеща индуцировать в огурце посевном разные сигнальные пути ответных химических реакций и, как следствие, синтез различных защитных веществ, при этом, превалирование того или направления реакции растения зависит от фазы развития растения и нагрузки фитофага при первичном повреждении.

3.4. Особенности семиохимических взаимодействий в системе «растение - фитофаг - энтомофаг».

При повреждении огурца посевого, как паутиным клещом, так и калифорнийским трипсом, происходит привлечение к поврежденным растениям энтомофага данных вредителей – хищного клопа ориуса.

Ольфактометрическими исследованиями продемонстрирована аттрактивная реакция ориуса на неповрежденные листья с предварительно поврежденных одним из фитофагов растений. Это дает основание предположить, что привлечение энтомофага определяется в первую очередь не кайромонами или следовыми веществами фитофагов, а летучими соединениями, системно выделяемыми поврежденными растениями и обладающими аттрактивным действием для энтомофага.

Летучие соединения, выделяемые неповрежденными листьями с растений, поврежденных калифорнийским трипсом, имеют большую степень привлечения ориуса, чем при повреждении растений паутиным клещом. При этом в наименьшей степени привлекают ориуса растения, при повреждении паутиным клещом первого настоящего листа (Рисунок 5).

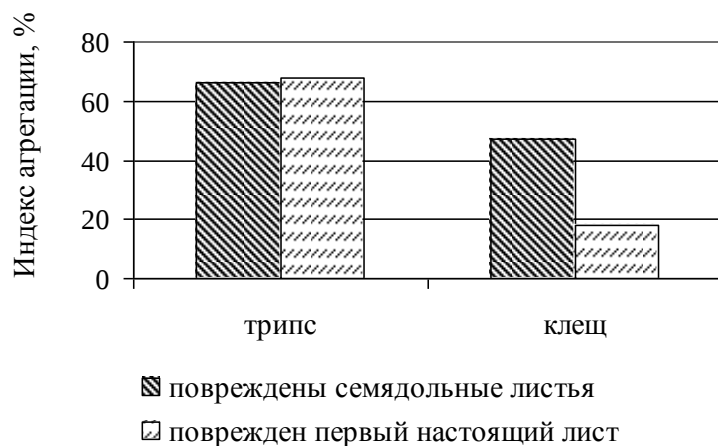


Рисунок 5. Зависимость степени привлечения хищного клопа ориуса на интактные листья огурца посевного от видовой принадлежности трофически связанных фитофагов, повреждающих растение

Результаты проведенных экспериментов продемонстрировали, что при общей схожести характера ответных защитных реакций растения на повреждающее воздействие фитофагов, конкретные их проявления могут иметь существенные отличия. В нашем случае они могут быть обусловлены как степенью специализации энтомофага, так и характером повреждения, наносимого фитофагами растению на разных фазах его развития.

Глава 4. Возможность повышения устойчивости всходов огурца посевного к фитофагам с помощью иммуномодуляторов

4.1. Семиохимические взаимодействия в системе "растение – фитофаг" под влиянием индукторов устойчивости, индуцирующих жасмонатый сигнальный путь формирования защитных реакций растений

Результаты наших исследований показали, что Хитозар Ф 7% в.р.к. и Иммуноцитифит, имеющие в своем составе арахидоновую кислоту, которая в свою очередь индуцирует биохимические пути метаболизма защитных реакций с участием жасмоновой кислоты, вызывают в огурце посевном ответные химические реакции, изменяющие поведение и численность дочернего поколения калифорнийского трипса и оранжерейной белокрылки. В то же время отмечено, что обработка растений данными препаратами не оказывает влияние на паутинного клеща.

Выявлено, что применение на огурце данных индукторов приводит к системному синтезу летучих соединений, обладающих репеллентным для трипса и белокрылки действием. Активность препаратов зависела от фазы развития растения на момент обработки. Иммуноцитифит вызывал статистически достоверную (при $p < 0,05\%$) репеллентную реакцию фитофагов при обработке семядольных листьев растений, тогда как Хитозаром Ф 7% в.р.к. – при обработке первого настоящего листа (Рисунок 6).

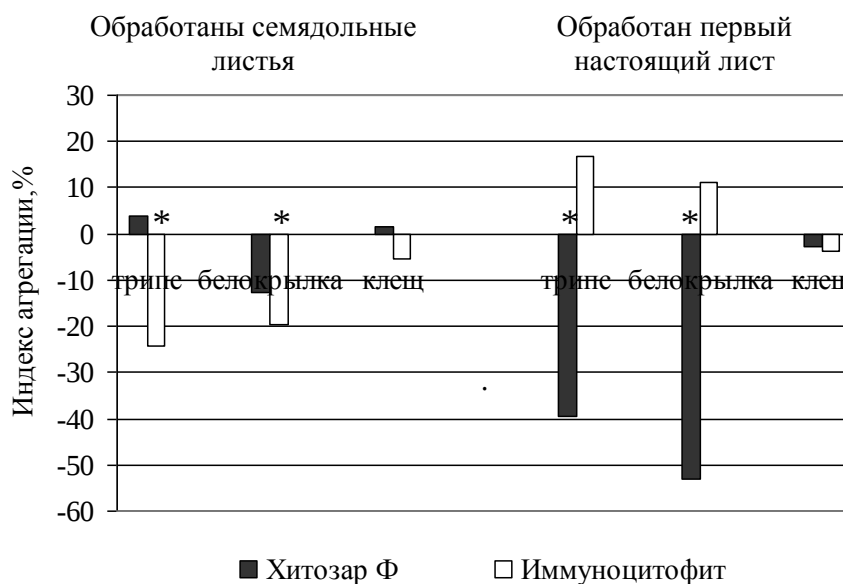


Рисунок 6. Системное влияние Хитозара Ф 7% в.р.к. и Иммуноцитифита на привлечение фитофагов к обработанным растениям огурца посевного.

*- достоверное различие данных с контролем при уровне вероятности $p \leq 0,05$

Сравнительный анализ индекса агрегации фитофагов показывает, что в большей степени репеллентная реакция калифорнийского трипса и оранжерейной белокрылки проявляется при обработке растений Хитозаром Ф, нежели Иммуноцитифитом, и составляет для трипса – 39,6%, для белокрылки – 53,2%

Проведенный химический анализ компонентного состава летучих органических соединений (ЛОС) в экстрактах листьев огурца с обработанных индуктором и водой растений, показывает, что репеллентная реакция калифорнийского трипса и оранжерейной белокрылки при обработке растений Иммуноцитифитом может быть объяснена следующим: появлением в смеси ЛОС обработанного растения 2-гексеналя, гексадеканала и изопропил пальмитат, почти в 9 раз увеличением изопропил миристата, в 6 раз снижением содержания 9,12,15-октадекатриеналя в сравнении с контролем (Таблица 2), а при обработке Хитозаром Ф 7% в.р.к. – почти в 4 раза снижением содержания метилового эфира гексадекановой кислоты, почти в 2 раза увеличение октадекановой и пальмитиновой кислот, в 1,5 раза увеличение 9,12,15-октадекатриеновой (линоленовой) кислоты (Таблица 3).

Установлено снижение численности потомства калифорнийского трипса и оранжерейной белокрылки при отдельной обработке всходов огурца Хитозаром Ф 7 % в.р.к. и Иммуноцитифитом. Максимальное снижение численности потомства трипса и белокрылки выявлено при обработке растений Хитозаром Ф 7 % в.р.к. первого настоящего листа (для трипса и белокрылки снижение численности потомства составило 53 % и 41 % соответственно).

Таблица 2

Содержание летучих органических соединений в экстрактах необработанных настоящих листьях огурца посевного при обработке семядольных листьев препаратом Иммуноцитифит

Химическое соединение	Содержание в пробе, %	
	Опыт	Контроль
2-гексеналь	0.57	N
гексадеканаль	< 0.20	N
Изопропил миристат	1.82	0.19
гексадецен-1-ол	0.29	0.59
9,12,15-октадекатриеналь	1.65	11.4
Фталат (лабораторная примесь)	< 0.20	N
Изопропил пальмитат	0.87	N
Метилловый эфир 11,14,17-эйкозатриеновой кислоты	1.08	0.42
Фитол	3.32	2.53
Линоленовая кислота	73.0	75.2

N - соединение не обнаружено.

Таблица 3

Содержание летучих органических соединений в экстрактах необработанных настоящих листьях огурца посевного при обработке первого настоящего листа препаратом Хитозар Ф

Химическое соединение	Содержание в пробе, %	
	Опыт	Контроль
Метилциклогексан	N	N
β-ионон	0.04	0.14
Тетрадекановая (миристиновая) кислота	0.07	N
Метилловый эфир гексадекановой кислоты	0.06	0.27
9-гексадекановая кислота	0.78	0.95
н-гексадекановая (пальмитиновая) кислота	15.81	7.85
Фитол	2.30	3.35
9,12,15- октадекатриеновая (линоленовая) кислота	69.81	40.81
Октадекановая кислота (стеариновая)	2.0	1.2

N - соединение не обнаружено.

Сравнительная оценка ответной реакции всходов огурца на обработку иммуномодуляторами и повреждение фитофагов показала, что репеллентная реакция трипса и белокрылки, а также снижение численности их потомства, выявлены, как при обработке растений Хитозаром Ф 7% в.р.к. и Иммуноцитифитом, так и при повреждении всходов огурца калифорнийским трипсом, оранжевой белокрылкой и паутинным клещом (при нагрузке фитофага 8 клещей, как на семядольные, так и на первый настоящий лист). Это дает основание предположить, что ответные реакции, вызываемые в огурце повреждениями этих вредителей, идут по жасмонатному сигнальному пути формирования устойчивости растений.

4.2. Семиохимические взаимодействия в системе "растение – фитофаг" под влиянием индукторов устойчивости, индуцирующих салицилатный сигнальный путь формирования защитных реакций растений

При обработке всходов огурца посевного, как препаратом Хитозар М 7% в.р.к., так и препаратом Циркон, системно увеличивается привлечение на растения калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки, но не происходит влияния на поведенческую реакцию паутинного клеща.

Установлено, что Хитозар М системно повышает аттрактивность калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки при обработке огурца в фазу первого настоящего листа (индекс агрегации трипса и белокрылки на обработанных Хитозаром М растениях огурца составил 35,4% и 43,8% соответственно) (Рисунок 7).

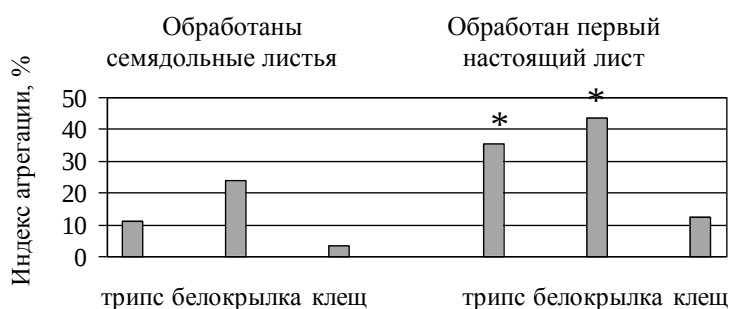


Рисунок 7. Системное действие Хитозара М 7% в.р.к на привлечение фитофагов к обработанным растениям огурца посевного.

*- достоверное различие данных с контролем при уровне вероятности $p \leq 0,05$

Вероятно, аттрактивная реакция калифорнийского трипса и оранжевой белокрылки на растения огурца, обработанные Хитозаром М 7% в.р.к., связана с изменениями в смеси летучих компонентов: уменьшением в 6,5 раз метилового эфира гексадекановой кислоты, увеличением в 2 раза н-гексадекановой (пальмитиновой) кислоты, появлением метилциклогексана и тетрадекановой (миристиновой) кислоты (Таблица 4).

Таблица 4.

Содержание летучих органических соединений в экстрактах необработанных листьев огурца посевного при обработке растений Хитозаром М

Химическое соединение	Содержание в пробе, %		
	Опыт		Контроль
	обработка 1-го настоящего листа	обработка семядольных листьев	
Метилциклогексан	2.07	N	N
β-ионон	0.20	0.03	0.14
Тетрадекановая (миристиновая) кислота	0.17	0.03	N
Метилловый эфир гексадекановой кислоты	0.04	0.05	0.27
9-гексадекановая кислота	0.57	0.80	0.95
н-гексадекановая (пальмитиновая) кислота	13.69	16.10	7.85
Фитол	2.75	4.48	3.35
(Z,Z,Z)-9,12,15- октадекатриеновая (линоленовая) кислота	61.31	63.60	40.81
Октадекановая кислота (стеариновая)	2,2	2.0	1.2

N- соединение не обнаружено.

Результаты оценки контактно-вкусовой реакции фитофагов показали, что обработка Цирконом семядольных листьев огурца посевного достоверно (при $p \leq 0,05$) снижает по сравнению с контролем заселение растений оранжерейной белокрылкой (индекс агрегации составил -19,2%), повышает аттрактивность имаго калифорнийского трипса (индекс агрегации составил 20,1%) и не влияет на поведение паутиного клеща, тогда как при обработке первого настоящего листа достоверных (при $p \leq 0,05$) различий опыта с контролем ни для одного из тестируемых фитофагов не выявлено.

Химический анализ компонентного состава смеси летучих соединений, системно выделяемых растениями после обработки семядольных листьев Цирконом в сравнении с контролем (обработка растений водой) показал появление в опытной пробе 2-гексенала, 2,6-нонадиенала и гексадеканала, почти в 4 раза увеличение 9,12,15-октадекатриенала, в 2,5 раза увеличение пальмитиновой кислоты и уменьшение фитола (Таблица 5).

Таблица 5

Содержание летучих органических соединений в экстрактах необработанных настоящих листьев огурца посевного при обработке семядольных листьев препаратом Циркон

Химическое соединение	Содержание в пробе, %	
	Опыт	Контроль
2-гексеналь	0.99	N
2,6-нонадиеналь	< 0.20	N
гексадеканаль	0.21	N
9,12,15-октадекатриеналь	2,29	0.59
н-гексадекановая (пальмитиновая кислота)	28,42	11.4
Метилловый эфир 11,14,17-эйкозатриеновой кислоты	0,33	0.42
Фитол	0,87	2.53
Линоленовая кислота	62,0	75.23

N - соединение не обнаружено.

Оценка численности потомства фитофагов показала, что происходит снижение численности потомства паутиного клеща при обработке первого настоящего листа растений, как Цирконом, так и Хитозаром М 7 % в.р.к. (снижение численности потомства после обработки Цирконом и Хитозаром М 7% в.р.к. составляет 34,5 % и 42,9 % соответственно). На калифорнийского трипса обработка растений Хитозаром М 7 % в.р.к. действует иначе и способствует статистически достоверному увеличению численности вредителя (численность дочернего поколения увеличилась на 22,4 % в сравнении с контролем), тогда как обработка Цирконом на численность дочернего поколения данного фитофага не влияла. Отмечено снижение численности дочернего поколения оранжерейной белокрылки на 25,4% при обработке растений Цирконом, тогда как обработка растений Хитозаром М 7% в.р.к. на численность дочернего поколения данного поколения не влияла.

Сравнительная оценка ответной реакции всходов огурца на обработку иммуномодуляторами и повреждение растительными членистоногими, показала, что, как при обработке растений Хитозаром М 7% в.р.к. и Цирконом, так и при повреждении всходов огурца паутиным клещом (16 экземпляров на 3 дня на семядольные листья и 8 экземпляров на 3 дня на первый настоящий лист), происходит антиксенотическое и антибиотическое воздействие растений на паутиного клеща, но

увеличивается привлечение калифорнийского трипса и оранжерейной белокрылки. Это дает основание предположить, что при нагрузках фитофага 16 экземпляров на 3 дня на семядольные листья и 8 экземпляров на 3 дня на первый настоящий лист ответные защитные реакции в огурце посевном идут по салицилатному сигнальному пути формирования, который может быть одним из возможных в развитии устойчивости огурца посевного к паутинному клещу.

Эксперименты по оценке системного влияния Хитозара М 7% в.р.к. и Хитозара Ф 7% в.р.к. на привлечение к обработанным растениям хищного клопа *Orius laevigatus* статистически значимой реакции энтомофага не выявили ни в одном из вариантов. Это свидетельствует, что за выявленную ранее аттрактивную реакцию энтомофага на поврежденные фитофагами растения ответственны специфические летучие соединения, продуцируемые именно поврежденным фитофагами, а не обработанным индукторами растением, что указывает на отсутствие полной идентичности индуцированных природными и синтетическими индукторами биохимических механизмов устойчивости растений к фитофагам.

ВЫВОДЫ

1. При повреждении огурца посевного паутинным клещом, калифорнийским трипсом и оранжерейной белокрылкой в растениях развиваются ответные химические реакции, которые проявляются в изменении поведения членистоногих вредителей и численности их дочернего поколения при повторном заселении растений. Характер изменений может быть объяснен спецификой повреждения, наносимого фитофагами растению на разных фазах его развития
2. Установлено, что при повреждении личинками калифорнийского трипса (8 особей в течение трех суток) происходит антиксенотическое и антибиотическое воздействие растений на имаго калифорнийского трипса и самок паутинного клеща (индекс агрегации для трипса и клеща составил -27,8% и -22,7% соответственно, снижение численности потомства трипса и клеща составило 36,1% и 37,1% соответственно). При отсутствии влияния повреждения растений трипсом на поведение белокрылки происходит снижение численности дочернего поколения данного фитофага на поврежденных трипсом растениях (снижение численности потомства составило 45,2%).
3. При питании оранжерейной белокрылкой (25 имаго на растение в течение 3 суток) на огурце посевном выявлено антиксенотическое и антибиотическое воздействие растений на данного фитофага и на имаго калифорнийского трипса (снижение численности потомства белокрылки и трипса составило соответственно 35,9% и 31,3%).
4. Питание паутинного клеща, как на семядольных листьях, так и на первом настоящем листе при нагрузке фитофага 16 экземпляров на растение на 3 дня приводит к репеллентному действию растений на особей данного фитофага (индекс агрегации при повреждении семядольных листьев и первого настоящего листа составил соответственно -24,4% и -35,6%). При этом в обоих вариантах происходит снижение численности дочернего поколения на 42%.

5. Выявлена зависимость степени заселения огурца посевного калифорнийским трипсом и оранжерейной белокрылкой от нагрузки паутинного клеща на семядольные листья: при нагрузке клеща 8 экземпляров на 3 дня обнаружена репеллентная реакция данных вредителей на поврежденные растения, с увеличением нагрузки паутинного клеща до 16 экземпляров на растение на 3 дня происходит привлечение к растениям калифорнийского трипса, но отсутствует влияние на заселение поврежденных растений оранжерейной белокрылкой.
6. Привлечение энтомофага - хищного клопа *Orius laevigatus* к всходам огурца, поврежденным, как калифорнийским трипсом, так и паутинным клещом определяется в первую очередь не кайромонами или следовыми веществами фитофагов, а летучими соединениями, системно выделяемыми поврежденными растениями. Летучие соединения, выделяемые неповрежденными листьями с растений, поврежденных калифорнийским трипсом, имеют большую степень привлечения ориуса, чем с растений, поврежденных паутинным клещом.
7. При обработке огурца посевного иммуномодуляторами Хитозаром Ф и Иммуноцитифитом, активирующими в растениях жасмонатный путь формирования защитных химических реакций, происходит системное репеллентное действие растений на калифорнийского трипса и снижение численности его дочернего поколения. Наибольшие величины для данных показателей установлены при обработке растений Хитозаром Ф 7% в.р.к. первого настоящего листа (индекс агрегации составил -39,6%, снижение численности потомства составило 53%). Это показывает, что жасмонатный путь формирования защитных химических реакций является преобладающим в обеспечении устойчивости огурца посевного к калифорнийскому трипсу.
8. Обработка всходов огурца посевного хитозансодержащими индукторами устойчивости, как Хитозаром М 7% в.р.к., так и Хитозаром Ф 7% в.р.к., не изменяет привлечение хищного клопа ориуса к растениям, в отличие от повреждения растений паутинным клещом и калифорнийским трипсом. Это указывает на различия биохимических механизмов защитных реакций растений к фитофагам, индуцированных повреждениями растительноядных членистоногих и иммуномодуляторами.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные в работе данные об особенностях иммунологического ответа огурца посевного на повреждение фитофагами и обработку растений иммуномодуляторами пригодны для разработки научно обоснованной стратегии использования явления индуцированной устойчивости растений в системе интегрированной защиты культуры.

Изложенные доказательства применения индукторов устойчивости Хитозара Ф 7% в.р.к. и Иммуноцитифита в качестве элемента интегрированной защиты огурца для снижения численности популяции калифорнийского трипса помогут усовершенствовать существующие системы защитных мероприятий в условиях защищенного грунта.

СПИСОК РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Юрченко, О. С.** Влияние обработок всходов огурца хитозансодержащими индукторами болезнеустойчивости на ольфакторные реакции калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) и хищного клопа *Orius laevigatus* (Fieber) (Heteroptera: Anthocoridae) / **О. С. Юрченко** [и др.] // Энтомологическое обозрение. – 2004. – Т. 83, вып. 4. – С. 808–815.
2. **Юрченко, О. С.** Дистантная ориентация имаго калифорнийского трипса *Frankliniella occidentalis* (Perg.) на огуречные растения, поврежденные растительноядными членистоногими / **О. С. Юрченко, В. Н. Буров** // Вестник защиты растений. – 2005. – N 1. – С. 45–49.
3. Буров, В. Н. Реакция косвенной индуцированной защиты растений огурца на повреждение растительноядными членистоногими / В. Н. Буров, Е. А. Степанычева, О. Г. Селицкая, **О. С. Кириллова** [и др.] // Энтомологическое обозрение. – 2005. – Т. 84, вып. 4. – С. 721–727.
4. **Кириллова О.С.** Циркон как иммуномодулятор устойчивости огурца к фитофагам / **О.С. Кириллова, О.Г. Селицкая** // Вестник защиты растений. – 2015. – N 1. – С. 58–62.

Работы в других изданиях и сборниках:

5. **Юрченко, О. С.** Индукция реакций устойчивости растений огурца к сосущим фитофагам в ответ на повреждающее воздействие / **О. С. Юрченко, В. Н. Буров** // Первая Всероссийская конференция по иммунитету растений к болезням и вредителям: науч. материалы (2-8 июля 2002 г.) – СПб., 2002. – С. 155–156.
6. Буров, В. Н. Хитозансодержащие препараты, как возможные индукторы устойчивости огурцов к западному цветочному трипсу / В. Н. Буров, **О. С. Юрченко** // Современные перспективы в использовании хитина и хитозана: материалы 7-ой Междунар. конф. (15–18 сентября, 2003 г.). – СПб., 2003 г. – С. 70–73.
7. **Кириллова, О. С.** Влияние хитозансодержащих индукторов болезнеустойчивости на динамику численности паутинного клеща / **О. С. Кириллова, В. Н. Буров** // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам: материалы 2-ой Всерос. конф. (29 сентября – 2 октября 2008 г.). – СПб., 2008. – С. 255–256.