

# НЕМАТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КАК ОСНОВА БИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА БОРЬБЫ С ГАЛЛОВЫМИ НЕМАТОДАМИ

## NEMATOPATHOGENIC FUNGI AS THE BASIS OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF ROOT-KNOT NEMATODES

Песцов Г.В.<sup>1,2</sup>, Лушников О.В.<sup>2</sup>, Глазунова А.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии" (ФГБНУ ВНИИФ)  
143050, Россия, Московская область, Большие Вяземы, ул. Институт, владение 5  
E-mail: georgypestsov@gmail.com

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» (ФГБОУ ВО ТГПУ им. Л.Н. Толстого)  
300026, г. Тула, пр. Ленина, д. 125  
E-mail: biozoom71@gmail.com, glazynovaanastasiya@gmail.com

Pestsov G.V.<sup>1,2</sup>, Lushnikov O.V.<sup>2</sup>, Glazunova A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Federal State Budgetary Scientific Institution «All-Russian Research Institute of Phytopathology»  
5, Institute street, Bolshie Vyazemy, Odintsovo district, Moscow region, 143050, Russia  
E-mail: georgypestsov@gmail.com

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Tula State Lev Tolstoy Pedagogical University» (TSPU)  
125, Lenin Avenue, Tula, Tula region, 300026, Russia  
E-mail: biozoom71@gmail.com, glazynovaanastasiya@gmail.com

Для борьбы с корневыми галловыми нематодами обычно используют пропаривание почвы, фумигацию формальдегидом, применяют химические нематодцидные препараты. Все эти методы не обладают достаточной эффективностью, так как носят временный характер, их применение обеспечивает снижение инфекционной нагрузки только на один сезон, значительно увеличивает стоимость производства сельскохозяйственной продукции и представляет риск для здоровья человека. Использование химических средств защиты растений приводит к повышению загрязнения окружающей среды, накоплению пестицидов в почве, воде и сельскохозяйственной продукции, нарушениям структуры агробиоценозов и снижению их способности к саморегуляции. В популяциях фитопатогенных организмов возрастает устойчивость к пестицидам и снижается эффективность их применения. Для получения экологически безопасной продукции растениеводства необходимо до минимума снизить применение химических средств защиты растений. Альтернативой или дополнением к химическому методу должен служить биологический метод защиты растений, основанный на применении различных групп антагонистов, гиперпаразитов, хищников, способных сдерживать развитие вредных организмов и сохранять высокое качество продукции. В работе предлагается апробировать методику выделения и искусственного перезаражения нематопатогенными грибами популяции корневых галловых нематод, изучить возможность применения нематопатогенных грибов для борьбы с галловыми нематодами. Разработать субстраты для массового размножения грибов – паразитов галловых нематод. Определить время и нормы внесения нематопатогенных грибов для эффективной борьбы с галловыми нематодами. В ходе научно-исследовательской работы было проведено фитосанитарное обследование теплиц в Тульской области и выявление очагов поражения корневыми галловыми нематодами. Был использован метод выделения нематод и паразитирующих на них нематопатогенных грибов в чистую культуру. В результате установлено, что в защищенном грунте возможно достаточно эффективное осуществление биологического контроля за развитием популяций галловых нематод.

**Ключевые слова:** фитопатогенные микроорганизмы, галловые нематоды, *Meloidogyne incognita*, нематопатогенные грибы, *Paecilomyces lilacinus*, овощные культуры, защита растений.

**Для цитирования:** Песцов Г.В., Лушников О.В., Глазунова А.В. НЕМАТОПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КАК ОСНОВА БИОЛОГИЧЕСКОГО МЕТОДА БОРЬБЫ С ГАЛЛОВЫМИ НЕМАТОДАМИ. *Аграрная наука*. 2019; (2): 122-125.

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-2-122-125>

To manage root-knot nematodes growth oil steaming, formaldehyde fumigation and chemical nematocidal drugs are usually used. All these methods are not sufficiently efficient, because their effect is temporary, their use reduces the infectious load for only one season, significantly increases the cost of agricultural production and poses a risk to human health. The use of plant protection chemicals leads to increased environmental pollution, the accumulation of pesticides in soil, water and agricultural products, violations of the structure of agrobiocenoses and reduces its ability to self-regulation. In populations of phytopathogenic organisms resistance to pesticides increases and efficiency of their application decreases. To obtain environmentally safe crop production it is necessary to minimize the use of chemical plant protection products. Biological method of plant protection should be an alternative or addition to the chemical method, it is based on the use of different groups of antagonists, hyperparasites, predators, that are able to restrain the development of harmful organisms and maintain high quality products. This paper proposes to test the methodology of isolation and artificial infection by nematode-pathogenic fungi of root populations of root-knot nematodes, to investigate the possibility of applying nematode-pathogenic fungi against root-knot nematodes. To develop substrates for mass formulation (production) of fungi – parasites of root-knot nematodes. To determine the timing and rates of application of nematode-pathogenic fungi for effective control of root-knot nematodes. During the research work, a phytosanitary examination of greenhouses in the Tula region and the identification of root-knot nematodes infection sites were carried out. The nematodes and nematopathogenic fungi that were parasiting on them were isolated in pure culture. As a result, it was found that in protected soil it is possible to carry out sufficiently effective biological control over the development of populations of root-knot nematodes.

**Key words:** phytopathogenic microorganisms, root-knot nematodes, gall nematodes, *Meloidogyne incognita*, nematode pathogenic fungi, *Paecilomyces lilacinus*, vegetable crops, plant protection.

**For citation:** Pestsov G.V., Lushnikov O.V., Glazunova A.V. NEMATOPATHOGENIC FUNGI AS THE BASIS OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF ROOT-KNOT NEMATODES. *Agrarian science*. 2019; (2): 122-125. (In Russ.)

<https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-2-122-125>

Корневые галловые нематоды представляют собой группу паразитических фитонематод, относящихся к роду *Meloidogyne*. Представители рода *Meloidogyne* поражают корни многих сельскохозяйственных культур. К ним относятся овощные, кормовые, плодово-ягодные, технические, древесные и декоративные растения. Наиболее вредоносны эти фитонематоды в защищенном грунте, где они наносят наибольший экономический ущерб сельскохозяйственным культурам. Галловые корневые нематоды свободно живут в почве как сапрофиты, после проникновения в корень растения продолжают свое развитие уже как фитопатогены. Наибольший вред галловых нематод проявляется в образовании галлов. Галлы перекрывают проводящую систему растения, вызывая некроз и растрескивание корней. Из-за этого вегетативная часть побега не получает нужного количества воды и минеральных веществ, которые необходимы для нормального развития растения. В результате обезвоживания и действия ферментов снижается интенсивность окраски листьев, генеративная часть побега не выполняет своих функций. Кроме того, галловые нематоды способствуют проникновению в корневую систему растений возбудителей корневых гнилей и трахеомикозного увядания. Все эти факторы приводят к общей задержке роста, деформации корней, увяданию и гибели растений [7].

Нематоды рода *Meloidogyne* имеют явно выраженный половой диморфизм. Взрослые самки имеют грушевидную или сферическую форму с вытянутой шейкой. Тело не инцистировано. Проникая в корни и питаясь там, самка увеличивается в размерах. Зрелые самки выделяют желатинообразное вещество, в которое откладывают яйца. Этот яйцевой мешок состоит из бесструктурного гликопротеина. В месте питания самок образуются гигантские клетки. Происходит также разрастание тканей, то есть образуется галл. Размер и форма галлов зависят от численности паразита, вида нематоды и растений-хозяев. Молодые растения, сильно пораженные представителями рода *Meloidogyne*, часто погибают до того, как успеют на корнях образоваться галлы. Одним из самых распространенных экономически значимых видов является *Meloidogyne incognita* [2, 6, 7].

Изучение механизмов биологического контроля над развитием фитопатогенных организмов дает возможность рационально использовать абиотические и биотические факторы среды, получать эффективную защиту растений от вредителей и болезней, снижать потери урожая.

Для биологического контроля вредных организмов используют биопрепараты на основе живых культур микроорганизмов и продуктов их метаболизма. Метаболитные биопрепараты обычно содержат одно или комплекс биологически активных веществ, ингибирующих развитие патогена. Такой подход предполагает экологически обоснованное применение организмов-интродуцентов, способных вступать во взаимодействие с возбудителями болезней и снижать плотность их популяций на разных стадиях развития. Использование агентов биологического контроля для регулирования динамики развития популяций галловых нематод должно быть основано на знании специфики их биоэкологических отношений и естественных регуляторных механизмов в агроэкосистемах. Внесение биопрепаратов и микробиологических удобрений в почву подавляет почвенную патогенную микробиоту, способствует развитию мощной корневой системы, повышает устойчивость и сопротивляемость растений как к патогенам, так и внешним неблагоприятным факторам [1].

Разрабатываемая концепция управления динамикой развития популяций галловых нематод, предполагает сдерживание их вредоносности на экономически незначимом уровне при минимальном отрицательном воздействии на окружающую среду. Применение биологических агентов особенно перспективно в условиях защищенного грунта, где крайне нежелательно использование химических препаратов. При этом интродуценты должны обладать высокой конкурентоспособностью, биологической активностью и иметь широкий адаптационный потенциал. Одним из перспективных видов в борьбе с галловыми нематодами является микромицет *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samson. Гриб *P. lilacinus* эндопаразит галловых нематод, оказывающий супрессивное действие на их популяции. Данный вид является почвенным сапрофитом, который способен быстро размножаться в почвогрунтах и колонизировать субстрат. Использование этого нематодопатогенного гриба может значительно снижать плотность популяций галловых нематод и является экологически безопасным и эффективным биологическим методом защиты растений. Штаммы вида *P. lilacinus* наиболее широко используются в мире для биологического контроля за галловыми и цистообразующими нематодами. Наиболее активные штаммы выделяют из инфицированных яиц нематод в почвах, супрессивных к растительным паразитическим нематодам [5].

#### Материалы и методы

В ходе научно-исследовательской работы было проведено фитосанитарное обследование теплиц в Тульской области. При помощи визуального метода обследования выявляли очаги, пораженных галловыми нематодами растений. Инфицированные корни растений извлекали из почвы, подсчитывали количество галл, определяли индекс галлообразования, отбирали пробы для дальнейшего изучения в лабораторных условиях. Отобранный материал отмывали от почвы, помещали в чашки Петри с водой, ткани корня расщепляли препаративными иглами и скальпелем. Подсчет нематод проводили под бинокляром в чашке Петри [2, 4].

В работе использовали метод выделения в чистую культуру нематодопатогенных грибов, которые паразитировали на галловых нематодах. Для увеличения агрессивности выделенными штаммами нематодопатогенных грибов еще раз заражали популяцию галловых нематод, затем опять их выделяли в чистую культуру и размножали. Размножение нематодопатогенных грибов производили на экспериментальных субстратах, имеющих большое сходство с тепличными почвогрунтами. Это гарантировало быстрое увеличение численности популяции нематодопатогенных грибов при внесении в почвогрунт. В качестве субстрата для наработки инокулюма использовали зерно пшеницы и стерилизованный экспериментальный субстрат (ЭС).

Экспериментальный субстрат представляет собой комплекс, который является продуктом направленной микробиологической ферментации целлюлозосодержащих отходов сельскохозяйственного производства при помощи определенных групп мезо- и термофильных микроорганизмов [3].

Для закладки опыта использовали инокулюм в количестве 4000 штук яиц и личинок на 1 кг почвы, которые тщательно перемешивали с субстратом. Зараженную почву засыпали в вегетационные сосуды, куда высаживали растения томата сорта Ранний 83 в фазе 3-4 настоящих листьев. Нематодопатогенный гриб *P. lilacinus* вноси-

Таблица 1.

Влияние субстратов на активность интродуцентов в борьбе с галловыми нематодами

| Вариант               | Биомасса растения, г |                  | Поражение, %    |                  | Количество галлов, шт. |               |
|-----------------------|----------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------------|---------------|
|                       | надземной части      | корневой системы | надземной части | корневой системы | на растение            | на 1 г корней |
| Контроль              | 32,8                 | 12,8             | 36,7            | 66,7             | 576,0                  | 45,0          |
| P. lilacinus на зерне | 35,3                 | 10,9             | 26,7            | 45,8             | 573,4                  | 52,6          |
| P. lilacinus на ЭС    | 49,0                 | 14,3             | 25,3            | 41,7             | 574,3                  | 40,2          |

Таблица 2.

Изучение способов повышения агрессивности штаммов P. lilacinus по отношению к галловым нематодам

| Вариант        | Биомасса растения, г |                  | Поражение, %    |                  | Количество галлов, шт. | Биологическая эффективность, % |
|----------------|----------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------------|--------------------------------|
|                | надземной части      | корневой системы | надземной части | корневой системы |                        |                                |
| Контроль       | 32,8                 | 15,3             | 42,8            | 70,2             | 609,2                  | -                              |
| P. lilacinus 1 | 48,2                 | 15,9             | 34,5            | 56,2             | 444,7                  | 27                             |
| P. lilacinus 2 | 56,0                 | 16,3             | 29,7            | 47,7             | 371,9                  | 39                             |

ли в грунт в момент закладки опыта из расчета 10 г/кг почвы. Учет степени поражения растений галловыми нематодами проводили на 40 сутки. Полученные данные анализировали и определяли биологическую эффективность применения нематопатогенных грибов [4].

При использовании различных биопрепаратов большое значение имеет не только выбор биологических агентов, но и дозы их внесения. При высокой концентрации интродуцентов, выделяемые ими метаболиты могут оказывать токсическое действие на растение, угнетая его рост и развитие. Также важную роль играет и субстрат, на котором был выращен нематопатогенный гриб. В связи с этим нами был заложен вегетационный опыт по изучению влияния субстратов на активность нематопатогенных грибов и развитие галловых нематод (табл. 1).

Как показали результаты вегетационного опыта, во всех вариантах биомасса растений была выше, чем в контроле, наибольшей она была в варианте с P. lilacinus (49,0 г). Более всего томаты поразились галловыми нематодами в контроле (66,7%). Сравнивая активность изучаемых штаммов в отношении галловых нематод, отмечали, что в вариантах с P. lilacinus индекс галлообразования был значительно ниже в вариантах на ЭС, чем на зерне. Данные показывают, что активность грибов, применяемых для сдерживания развития популяций галловых нематод, была выше на субстрате из ЭС.

Для определения агрессивности нематопатогенных грибов был заложен опыт, в котором оценивали активность штаммов P. lilacinus, выделенных из оотек галловых нематод (P. lilacinus 1) и оотек, которые были

повторно перезаражены чистой культурой гриба, выделенного из оотек ранее (P. lilacinus 2) (табл. 2).

В результате было установлено, что нематопатогенный гриб P. lilacinus способен в значительной степени снижать численность галловых нематод. Так, при применении штамма изучаемого гриба, выделенного из оотек галловой нематоды, биологическая эффективность составила 27%, а после повторного пассирования через нематод она достигла 39%, что показывает эффективность и перспективность предлагаемого метода увеличения агрессивности штаммов нематопатогенных грибов.

Анализ результатов проведенных опытов показал, что в защищенном грунте возможно достаточно эффективное осуществление биологического контроля за развитием популяций галловых нематод. Используемые нематопатогены должны обладать высокой конкурентной способностью и широким адаптационным потенциалом. Как правило, это микромикеты, встречающиеся во многих типах почв, в частности виды рода Paecilomyces. При этом следует отдавать предпочтение штаммам, выделенным в данной местности, которые являются органической частью нативной микробиоты. Штаммы вида P. lilacinus активно колонизируют органический субстрат и паразитируют на яйцах галловых нематод.

Изучение потенциальных механизмов биологического контроля дает возможность получить наиболее эффективную защиту растений от заражения вредными организмами, которая может достигаться снижением потенциального инокулюма патогена или положительным воздействием на растение-хозяина.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бухонова Ю. В. Защита томата и огурца от почвенных патогенов в теплицах // Защита и карантин растений. — 2012. — № 1. — С. 48–50.
2. Кулинич О. А. Методические указания по выявлению, определению паразитических нематод лесных древесных пород и методы защиты от них / О. А. Кулинич. — М.: ВНИИлесресурс, 1990. — 32 с.
3. Песцов Г. В. Нетрадиционные овощные культуры и грибы (особенности выращивания, видовой состав возбудителей болезней и экологически безопасные меры борьбы с ними) / Г. В. Песцов. — Тула: Гриф, 2003. — 212 с.
4. Рекомендации по учету и выявлению вредителей и бо-

лезней сельскохозяйственных растений / Под. ред. Ю.Б. Шуровенкова, А.Ф. Ченкина. — Воронеж: Обл. типография, 1984. — 274 с.

5. Atkins S.D. et al. The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of Paecilomyces lilacinus / S.D. Atkins, I.M. Clark, S. Pande, P.R. Hirsch, B.R. Kerry // FEMS Microbiology Ecology — 2005. — Vol. 51. — Issue 2. P. 257–264.

6. Karuri H. W. Survey of root knot nematodes and resistance to Meloidogyne incognita in sweet potato varieties from Kenyan fields / H. W. Karuri, D. Olago, R. Neilson, E. Mararo, J. Villingerd // Crop Protection. — 2017. — Vol. 92. — P. 114–121.

7. Nickle, W.R. Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker, New York. (Root-Knot Nematodes: Meloidogyne Species and Races. J. D., Eisenback, H. H. Triantaphyllou). 1991. — P. 191–274.

## REFERENCES

1. Buhonova Y. V. Protection of tomato and cucumber against soil pathogens in greenhouses // Protection and quarantine of plants. — 2012. — № 1. — P. 48–50.
2. Kulinich O. A. Methodical instructions on identification, determination parasitic nematodes of forest tree species and methods of protection against them / O. A. Kulinich. — Moscow: Vniitslesresurs, 1990. — 32 p.
3. Pestsov G.V. Non-traditional vegetables and mushrooms (cultivation features, species composition of pathogens and environmentally friendly measures to combat them) / G.V. Pestsov. — Tula: Grif, 2003. — 212 p.
4. Recommendations for the accounting and identification of pests and diseases of agricultural plants / Pod. ed. by B.

Shurovenkov, A. F. Chenkin. — Voronezh: Obl. printing house, 1984. — 274 p.

5. Atkins S.D. et al. The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus* / S.D. Atkins, I.M. Clark, S. Pande, P.R. Hirsch, B.R. Kerry // FEMS Microbiology Ecology — 2005. — Vol. 51. — Issue 2. — P. 257–264.
6. Karuri H. W. Survey of root knot nematodes and resistance to *Meloidogyne incognita* in sweet potato varieties from Kenyan fields / H. W. Karuri, D. Olago, R. Neilson, E. Mararo, J. Villingerd // Crop Protection. — 2017. — Vol. 92, — P. 114–121.
7. Nickle, W.R. Manual of Agricultural Nematology. Marcel Dekker, New York. (Root-Knot Nematodes: *Meloidogyne* Species and Races. J. D., Eisenback, H. H. Triantaphyllou). 1991. — P. 191–274.

## ОБ АВТОРАХ:

**Песцов Г.В.**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор  
**Лушников О.В.**, магистрант  
**Глазунова А.В.**, магистрант

## ABOUT THE AUTHORS:

**Pestsov G.V.**, Doctor of Agricultural Sciences, Professor  
**Lushnikov O.V.**, master's student  
**Glazunova A.V.**, master's student