

ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ, ФИЗИОЛОГИИ И ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

На правах рукописи
УДК: 635.48:632.937:581.135

ГЛАДКАЯ АЛЛА

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ
РАСТЕНИЙ РОДА *RHEUM* В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ**

411.09 - ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Кишинэу, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. Растения рода <i>Rheum</i> - важнейший источник функциональных биологически активных веществ	6
2. Материалы и методы исследований	6
3. Экологические особенности выращивания растений рода <i>Rheum</i> в условиях Республики Молдова, определение локализации и состава биоактивных веществ	7
3.1. Экологические особенности выращивания растений рода <i>Rheum</i> в условиях Республики Молдова	7
3.2. Способы оптимизации технологии выращивания растений рода <i>Rheum</i>	8
3.3. Определение локализации и состава биоактивных веществ в надземной и подземной части растений <i>Rheum rhaponticum</i> L.	8
3.4. Разработка методов получения экстрактов на основе растений рода <i>Rheum</i> для биологического контроля фитопатогенов	9
3.5. Качественный и количественный анализ фенольных веществ в экстрактах корня и листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L.	9
3.6. Определение биологической эффективности экстрактов из <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля вредителей <i>Aphididae</i> и <i>Sitotroga cerealella</i> Oliv	9
4. Оценка эффективности растительных экстрактов на основе <i>Rheum rhaponticum</i> для биологического контроля болезней сельскохозяйственных культур	10
4.1. Определение биологической эффективности экстрактов корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля фитопатогенов семян сельскохозяйственных культур	10
4.2. Определение влияния предпосевной обработки семян однодольных (кукуруза) и двудольных (соя) растений композициями на основе экстрактов <i>Rheum</i>	11
4.3. Определение биологической эффективности композиций на основе экстрактов из <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля мучнистой росы сельскохозяйственных культур <i>Cucurbitaceae</i> в закрытом грунте	13
Общие выводы и рекомендации	21
Библиография	23
Список опубликованных работ по теме диссертации	25
Аннотация (румынский, русский, английский)	28

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и важность рассматриваемой проблемы. Один из современных мировых трендов – органическое сельское хозяйство активно набирает обороты во всем мире. Для фермеров это способ повысить свою рентабельность и доходы. По данным ВНИИ Агрэкоинформ, при переходе на технологии органического сельского хозяйства происходит повышение рентабельности сельхозпроизводства не менее, чем на 30%. Организация Объединенных Наций проводила исследования, согласно которым при реорганизации хозяйств с внедрением методов органического производства, продуктивность и доходы фермеров увеличивались в 2-3 раза. По данным Международной Федерации Движений Экологического Сельского Хозяйства, мировой рынок органической сельскохозяйственной продукции к 2020 году достигнет 200-250 млрд. долл. В настоящее время более 90% экологически чистых продуктов питания потребляют страны Европейского Союза и США. Однако в ЕС дефицит сельскохозяйственных земель, таким образом, Молдова потенциально способна занять свое место в производстве и экспорте органической сельхозпродукции на рынки США и ЕС [1-2].

В целях производства органической продукции, возникла очевидная необходимость поиска новых, альтернативных, экологически безопасных методов борьбы с болезнями и вредителями, что привело к признанию продуктов растительного происхождения (растительных экстрактов) весьма эффективными, социально приемлемыми средствами защиты растений. Многочисленные способы применения биоактивных веществ растений рода *Rheum*, семейства *Polygonaceae*, в медицине и пищевой промышленности создают огромные перспективы для дополнительного исследования и создания безотходной технологии его переработки (биоконверсия) в органическом земледелии. Для более полного раскрытия потенциала биоактивных веществ корня и листьев ревеня (*Rheum rhabarbaricum* L.) были созданы и испытаны композиции на основе экстрактов, сочетающие в себе различные типы биологической активности (фунгицидной, стимулирующей, инсектицидной). Применение подобных средств защиты растений позволит снизить количество химических обработок, а значит – и остаточное количество пестицидов в органической сельскохозяйственной продукции.

Научные международные исследования свойств экстракта корня ревеня в защите растений лишь фрагментарно намечают способы его применения, тогда как свойства листьев и соцветий практически не изучены. Использование в мире экстрактов *Rheum* и нескольких препаратов на их основе (Kobe, 2005; VEgard, 2012) для биоконтроля фитопатогенов совершенно недостаточно раскрывает значительный потенциал применения этого растительного сырья [3-4]. В Молдове, на данный момент, не зарегистрировано ни одного препарата для защиты растений на основе экстракта корня, листьев или соцветий растений ревеня и преимущества использования биоактивных веществ этого растения являются слабоизученными.

Цель исследований: определить состав биоактивных веществ в экстрактах из растений *Rheum rhaponticum* L. и оценить возможности их использования в качестве средств защиты растений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- разработка технологии выращивания растений рода *Rheum* для получения качественного сырья;
- определение состава и месторасположение основных действующих веществ в растении *Rheum rhaponticum* L. и выбор оптимального способа их экстрагирования;
- оценка эффективности предпосевной обработки экстрактом корня и листьев *Rheum rhaponticum* L. в контроле фитопатогенов семян сельскохозяйственных растений рода *Fusarium*;
- определение биологической эффективности экстрактов из *Rheum rhaponticum* L. для контроля фитопатогенов мучнистой росы сельскохозяйственных растений из семейства *Cucurbitaceae*;
- оценка влияния экстрактов из растений *Rheum rhaponticum* L. на контроль вредителей сельскохозяйственных культур (*Sitotroga cerealella* Oliv. и представителей семейства *Aphididae*).

Исследовательская гипотеза состоит в изучении биологических свойств экстрактов из растения *Rheum rhaponticum* в контроле фитопатогенов (*Sphaerotheca*, *Fusarium*) и насекомых вредителей (*Aphididae*, *Sitotroga*) с применением различных исследовательских методов и разработке эффективных композиций на основе экстрактов для защиты растений.

Методология научных исследований

Для решения намеченных задач разработали, освоили и применили ряд лабораторных и полевых методик: анатомические исследования корней с использованием светового микроскопа и гистохимических реакций (раствор Люголя и 33% водного раствора натрия гидроксида); определение наличия антрахинон производных в экстракте (ВЭЖХ, спектрофотометрия); методы выделения и идентификации биологически активных веществ; методы определения ростстимулирующего и фунгицидного эффекта (исследование энергии прорастания, всхожести и биометрических показателей при проращивании семян в чашках Петри, на опытных делянках); метод исследования фунгицидной эффективности обработки рассады композициями на основе экстрактов *Rheum* с использованием искусственного инфицирования в контролируемых условиях теплицы; определение антифунгальных свойств экстракта (метод диффузии в агар, определение баллов поражения корней и листьев растений); методы определения антифидантных и инсектицидных свойств (учет смертности или отрождения вредителя); методы определения фитостимулирующих свойств (при помощи прибора CM 1000 Chlorophyll Meter измеряли индекс хлорофилла в листьях) [5-17].

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Растения рода *Rheum* - важнейший источник функциональных биологически активных веществ

В разделе описана история и изложены современные тенденции в области исследования и применения биологически активных веществ (фенолов, флавоноидов) растений рода *Rheum* в мире. Проанализированы и выделены роль фенольных соединений и механизмы их действия в процессе жизнедеятельности растений, что послужило основанием для применения их в качестве средств защиты растений. В результате анализа ботанических особенностей рода *Rheum*, был подобран для исследований наиболее неприхотливый, рентабельный и продуктивный вид ревеня *R. rhaponticum*. Представлена характеристика основных действующих биоактивных веществ, входящих в состав растительного сырья *R. rhaponticum* – эмодина, кверцетина. Рассмотрены существующие способы применения экстрактов из растений рода *Rheum* и препаратов («Kobe 1.2 SL»; «VEgard 0,5% C») на их основе для защиты растений в мире. Изложены преимущества использования экологически безопасных препаратов растительного происхождения в целях производства органической продукции. Указывается на актуальность и перспективность исследования и применения средств защиты растений на основе *R. rhaponticum* в Республике Молдова.

2. Материалы и методы исследований

Работы по выращиванию и исследованию растительного сырья *R. rhaponticum*, представленные в данной работе, проведены в Институте генетики, физиологии и защиты растений, Кишинэу, Республика Молдова (2012-2019 г). Предметом нашего исследования являлись биоактивные вещества растений *R. rhaponticum* L. В ходе многочисленных опытов использовались корни, соцветия и листья растений *R. rhaponticum* ручного сбора. Определение свойств экстрактов *R. rhaponticum* проводили на широком круге тест-объектов: на семенах сои и кукурузы работали с фитопатогенами рода *Fusarium* класс *Deuteromycetes*, царство *Mycota*; на рассаде и взрослых растениях тыквенных культур изучали защиту от *Sphaerotheca fuliginea* Poll.; класс *Ascomycetes*, царство *Mycota*; на культурах яблони, злаковых и щавеля работали с тлей *Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop., *Schizaphis graminum* Rondani., сем. *Aphididae*, класс *Insecta*; на зернах ячменя работали с вредителем запасов *S. cerealella* Oliv.; отряд *Lepidoptera*, сем. *Gelechiidae*, класс *Insecta*; влияние предпосевной обработки изучали на семенах сои, кукурузы и тыквенных культур.

В целях обнаружения антраценпроизводных в растении *R. rhaponticum* были использованы методы микроскопирования в сочетании с гистохимическими реакциями (Зайцева Н. В., 2014), [5]. Для качественного и количественного анализа биоактивных веществ экстрактов были использованы методы ВЭЖХ и спектрофотометрии в соответствии с рекомендациями фармакопеи Европейского Союза и Российской Федерации [6-7]. В целях получения расширенного спектра биоактивных веществ был использован метод водно-этанольной экстракции на водяной бане, с последующей мацерацией (Бобейкэ В., 2007) [8]. Определение влияния экстракта корня на контроль патогенов семян (*Fusarium sporotrichiella* Bil.,

F. moniliforme Sheldon., *F. graminearum* Schw.) проведено методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. Определение оптимальных концентраций экстрактов с фунгицидными и стимулирующими свойствами проводили в процессе лабораторных и мелкоделяночных опытов в соответствии с общепринятыми методиками и межгосударственными стандартами [9-11]. Для определения влияния предпосевной обработки семян сои, кукурузы сахарной и культур *Cucurbitaceae* (*Cucurbita pepo* L, *Cucumis melo* L, *Cucumis sativus* L) экстрактами ревеня на всхожесть и качество проростков, были использованы методики, представленные авторами (Hai Su, Marja Koivunen, Pamela Marrone, 2014) [12-13]. Биологическую эффективность экстрактов ревеня для контроля мучнистой росы (*Sphaerotheca fuliginea* Poll. f. *cucurbitae* Jacz.) на культурах *Cucurbitaceae*, определяли методом мелкокапельного опрыскивания растений рабочей жидкостью, содержащей различные композиции экстрактов ревеня. Интенсивность развития болезни определяли по стандартным методикам (Торопова Е. Ю, 2012, Койшыбаев М., 2016) [14-15]. Определение биологической эффективности экстрактов из растений рода *Rheum* в контроле вредителей сельскохозяйственных культур проводили в лабораторных условиях и руководствовались общепринятыми методиками лабораторных и полевых исследований (Зезюлина Г., 2003) [16]. Для подбора оптимальной концентрации экстракта, стимулирующей физиологические показатели растений, был определен индекс хлорофилла в листьях растений, обработанных экстрактами (при помощи прибора CM 1000 Chlorophyll Meter) [17]. Для построения графических материалов использовали пакет программ Microsoft Office Excel. Математическая обработка и оценка достоверности полученных научных данных проведена с использованием платформы ABC Pascal.

3. Экологические особенности выращивания растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова, определение локализации и состава биоактивных веществ. Способы получения экстрактов и определение их инсектицидной активности

Для получения качественного растительного сырья были проведены фенологические исследования за состоянием и фазами развития ревеня, выращиваемого на опытном участке (50м²). Одновременно проводились опыты по оптимизации всхожести семян и учеты восприимчивости растений к болезням и вредителям.

3.1. Экологические особенности выращивания растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова

В процессе исследований нами было отмечено, что ревень (*Rheum*) – морозоустойчивое, влаголюбивое, аллелопатически активное, овощное растение. Посадочный материал ревеня получали двумя способами – выращиванием рассады из семян и путем вегетативного размножения. При первом способе, в марте-мае семена высевали узкорядным способом на грядах с междурядьями 35см по схеме 20см+50см. Норма посева семян 2-4 кг/га. Рассаду ревеня высаживали по схеме: от 70x70см, до 120x120см. Густота стояния 6-9 тыс. растений/1га. Уход за плантацией проводили в течение всего периода вегетации – рыхление междурядий, прополка, полив. Фенологические наблюдения за развитием растений рода *Rheum* позволили

выявить основных вредителей и возбудителя болезни: олёнка мохнатая (*Epicometis hirta* Poda, сем. *Scarabaeidae*), личинка хруща майского (род *Melolontha*, сем. *Scarabaeidae*), ревеневый клоп (*Coreus marginatus* L., сем. *Coreidae*), аскохитоз (*Ascochyta rhei* Ell. et Ev., сем. *Didymellaceae*).

Сбор биоматериала на участке проводили регулярно: черешков свежих (360 г/м²), семян (27 г/м²), корней сухих (125 г/м²) и листьев свежих (420 г/м²).

В процессе исследований были определены особенности агротехники выращивания растения *Rheum* в условиях Республики Молдова. Установлено, что культивирование ревеня продуктивно и рентабельно, так, как ремень слабо поражается болезнями и вредителями, а урожай семян, черешков и сырья для экстрактов (корни и листья) можно получать, начиная с 2-3-летнего года возраста растений в течение 10 лет.

3.2. Способы оптимизации технологии выращивания растений рода *Rheum*

Было установлено, что значительное снижение всхожести семян зависит от их возраста. Для повышения всхожести семян *R. rhaponticum* нами были протестированы наиболее перспективные микроорганизмы – продуценты биопрепаратов, из имеющегося в институте ассортимента. В результате данных исследований были отобраны наиболее эффективные суспензии, и опыты продолжили с препаратами Gliocladin – SC и Trichodermin-SC [18]. Размножение ревеня было оптимизировано включением в существующую технологию нового элемента предпосевной обработки семян биопрепаратами на основе грибов рода *Trichoderma*, с увеличением лабораторной всхожести семян в 2 раза [19].

3.3. Определение локализации и состава биоактивных веществ в надземной и подземной части растений *Rheum*

Корни ревеня, культивируемого на нашем опытном участке (возрастом не менее 3 лет), собирали осенью или ранней весной, разрезали на части и сушили. В результате микроскопического (в сочетании с гистохимической реакцией) и анатомо-морфологического анализа корней *R. rhaponticum* были выявлены основные зоны локализации антраценпроизводных: в основной паренхиме вторичной коры и паренхиме сердцевинных лучей (Рисунок 3.1. а, б, в).

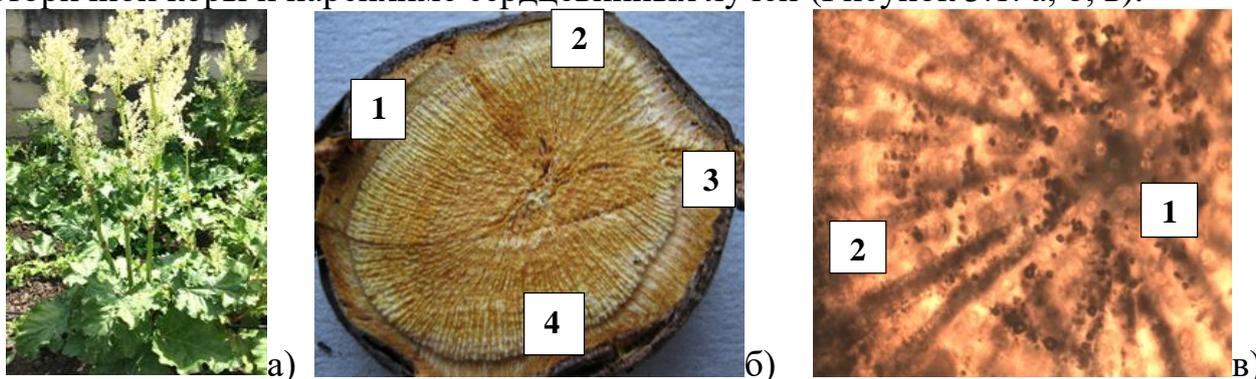


Рисунок 3.1. Растительное сырье *Rheum rhaponticum* L.: а) общий вид растения; б) срез корня (1 – пробка; 2 – паренхима коры; 3 – камбий; 4 – сосуды ксилемы); в) фрагмент среза корня (x100), окрашенный раствором щелочи – локализация антраценпроизводных: 1) паренхима сердцевинных лучей, 2) паренхима коры

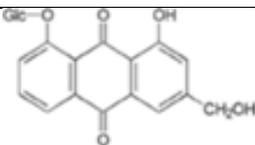
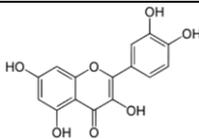
3.4. Разработка методов получения экстрактов на основе растений рода *Rheum* для биологического контроля фитопатогенов

Исходя из наличия биологически активных веществ в составе корня и листьев *R. rhaponticum* (эмодин, кверцетин), была разработана схема их экстракции, состоящая из сбора, сушки и измельчения растительного материала, смешивания с растворителем (этиловый спирт в концентрации 70%), экстрагирования на водяной бане, мацерации (5-6 часов), упаривания и приготовления растворимого концентрата.

3.5. Качественный и количественный анализ фенольных веществ в экстрактах корня и листьев *Rheum*

При помощи методов спектрофотометрии и ВЭЖХ нами было установлено, что количество флавоноидов в экстракте корня *R. rhaponticum*, выращенного в климатических условиях Республики Молдова, составило 202,46 мг/100г, в экстракте листьев – 86,45 мг/100г. Одновременно было доказано, что количество фенолов в экстракте из корня составило 1233,9 мг/100 г, а в экстракте из листьев – 588,8 мг/100 г [21-22]. На основе полученных результатов нами была составлена характеристика свойств основных действующих веществ, экстрагированных из *R. rhaponticum*, для применения в защите растений от болезней и вредителей (таблица 3.1).

Таблица 3.1. Характеристика свойств основных действующих биоактивных веществ в составе растительного сырья из подземной и надземной частей *Rheum rhaponticum*

Название / свойства	Эмодин	Кверцетин
Структура		
формула	$C_{15}H_{19}O_5$	$C_{15}H_{10}O_7$
Химические свойства	растворим в этаноле, соде каустической	Растворим в этаноле, уксусной кислоте
Свойства в защите растений	пестицид, антифидант, бактерицид, фунгицид.	субстрат пероксидазы, антифидант, ингибитор альдозы- редуктазы.

3.6. Определение биологической эффективности экстрактов из *Rheum rhaponticum* для контроля вредителей *Aphididae* и *Sitotroga cerealella* Oliv.

Определение биологической эффективности экстрактов *R. rhaponticum* для контроля вредителей сельскохозяйственных культур проводили в лабораторных условиях. В результате опыта по определению влияния экстрактов корня и листьев *Rheum* в контроле *S. cerealella* было установлено, что применение экстракта корня ревеня в концентрации 80%, снижает отрождение имаго в 2 раза (0,6 шт./зерно). Инсектицидное действие было отмечено у экстракта листьев ревеня (0,8 шт./зерно) и комбинации экстрактов корня и листьев ревеня (0,7 шт./зерно). В контроле поражение составило 1 шт./зерно.

Была определена инсектицидная активность экстрактов корня (46,1%), соцветий (48,5%) и листьев ревеня (57,8%) для подавления вредителей из семейства *Aphididae* (*Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop. и *Schizaphis graminum* Rondani.) (Рисунок 3.2).

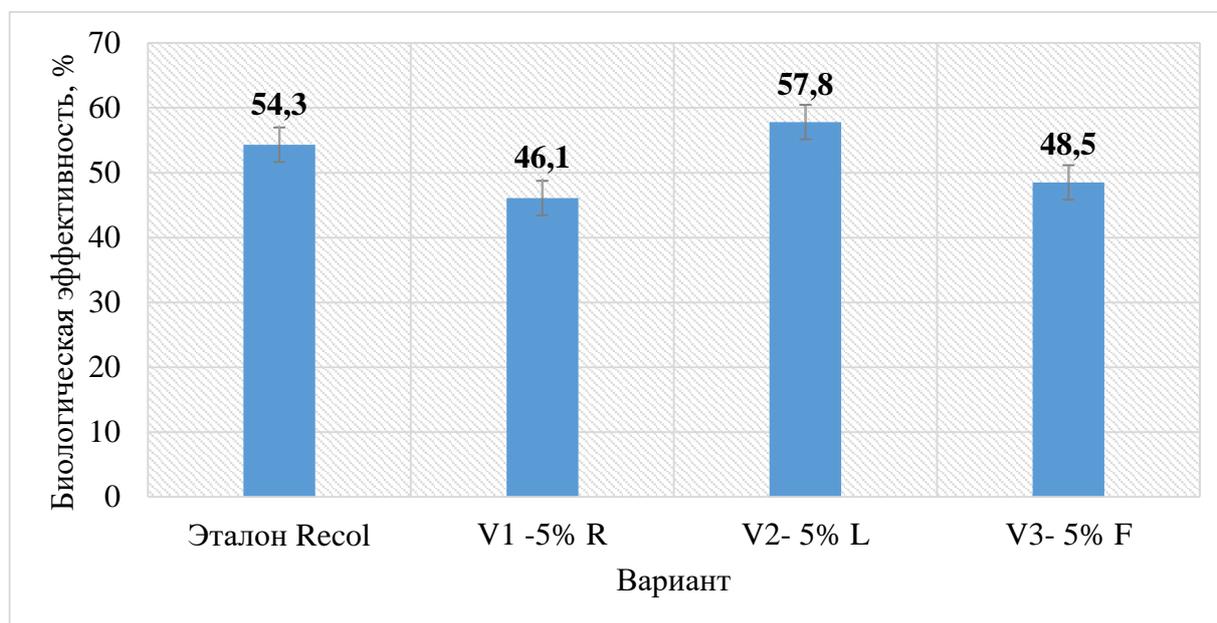


Рисунок 3.2. Средняя биологическая эффективность экстрактов корня (R), листьев (L) и соцветий (F) *Rheum rhaponticum* L. в контроле вредителей семейства *Aphididae*

Полученные результаты подтверждают перспективность использования экстракта листьев ревеня (инсектицидная активность, рентабельность, доступность) в сочетании с системными инсектицидами для снижения дозы химического препарата [22].

4. Оценка эффективности растительных экстрактов на основе *Rheum rhaponticum* L. для биологического контроля болезней сельскохозяйственных культур

4.1. Определение биологической эффективности экстрактов корня *Rheum rhaponticum* L. для контроля фитопатогенных агентов семян сельскохозяйственных культур

Установлено, что в лабораторных условиях экстракт корня *R. rhaponticum* в концентрациях выше 10% обладает прямым фунгицидным действием в отношении фитопатогенов кукурузы и сои. Было определено, что фунгицидные свойства экстракта прямо пропорциональны его концентрации [23]. Средний диаметр стерильной зоны в отношении патогенов *F. moniliforme* составил 6,5 мм, *F. graminearum* – 7,3 мм, *F. sporotrichiella* – 22,4 мм (Таблица 4.1).

Таблица 4.1. Определение диаметров зон подавления роста патогенов рода *Fusarium* экстрактом из корня (R) *Rheum rhaponticum* L.

Вариант	Диаметры зон подавления роста патогена <i>Fusarium</i>		
	<i>F. moniliforme</i> Sheldon, мм	<i>F. graminearum</i> Schw., мм	<i>F. sporotrichiella</i> Bil., мм
Контроль	0	0	0
Экстракт R(80%)	6,5	7,3	22,4
Экстракт R (50%)	2,3	2,2	13,4
Экстракт R (10%)	0,5	0,5	0,7
Экстракт R (1%)	0	0	0
НСР _{0,05}	0,12	0,06	1,1

4.2. Определение влияния предпосевной обработки семян однодольных (кукуруза) и двудольных (соя) растений композициями на основе экстрактов *Rheum*

Исследование влияния предпосевной обработки экстрактами корня и листьев *R. rhaponticum* на всхожесть и размеры кукурузы сахарной (гибрид «Рогумбени 280») и сои (сорт «Надежда») проводились в лабораторных и мелкоделяночных условиях. Результаты мелкоделяночных опытов подтвердили лабораторные исследования и доказали выраженное фитостимулирующее действие сочетания экстрактов листьев и корня ревеня (V3). Биометрические показатели в этом варианте выше, чем в других вариантах и в контроле (всхожесть кукурузы на 26,7%, всхожесть сои - на 23,4%) (Рисунок 4.1.).

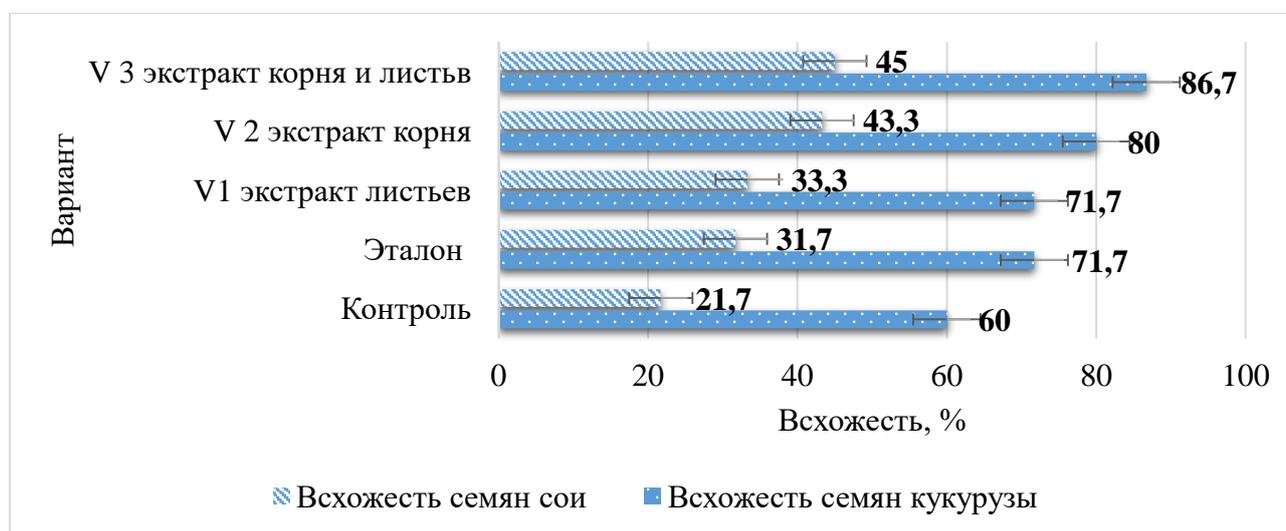


Рисунок 4.1. Влияние предпосевной обработки семян кукурузы сахарной (НСР_{0,05} =12,0) и сои (НСР_{0,05} =9,9) экстрактами из корня и листьев *Rheum rhaponticum* L. на показатели всхожести и размеры проростков

Было доказано, что экстракт корня ревеня (V2) также проявил фитостимулирующие свойства. Так, предпосевная обработка этим экстрактом увеличила показатели всхожести кукурузы на 26,7%, сои на 14,4%, в сравнении с контролем. Одновременно было установлено, что предпосевная обработка семян

экстрактом листьев ревеня (V1) оказал стимулирующее влияние на всхожесть сои и кукурузы, и показатели размеров растений, сопоставимы с эталонными значениями.

Для исследования фунгицидных свойств экстрактов ревеня был использован искусственный инфекционный фон. В почву, инфицированную фитопатогенами кукурузы (*F. moniliforme*, *F. graminearum*) и сои (*F. sporotrichiella*), были высеяны семена, обработанные определенными составами в течение 15 минут, опыты проводили в трехкратной повторности. Через 30 суток растения извлекли из почвы вместе с корневой системой и оценили степень заражения растений, согласно шкале для учета (Таблица 4.2).

Таблица 4.2. Биологическая эффективность предпосевной обработки семян кукурузы и сои экстрактами из корня (R) и листьев (L) *Rheum raphonticum* L.

№	Варианты	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Кукуруза, гибрид Porumbeni 280					
1	Контроль	1,5	81,4	27,5	
2	Эталон Royal Flo	0,7	48,1	11,7	58,6
3	V 1- 0,5 % L	0,7	42,5	10,0	59,6
4	V 2 -3 % R	0,8	46,0	10,0	59,6
5	V 3 -0,5 % L + 3 %R	0,5	31,0	8,3	71,7
	НСР _{0,05}			1,8	8,7
Соя, сорт Надежда					
1	Контроль	1,0	37,0	25,0	
2	Эталон Royal Flo	0,4	14,8	8,1	67,6
3	V 1 -0,5 % L	0,4	34,0	10,0	60,0
4	V 2 -1 % R	0,3	27,0	7,5	73,3
5	V 3- 0,5 %L + 1 % R	0,2	21,3	5,8	76,8
	НСР _{0,05}			2,7	14,7

Таким образом, нами было доказано, что наибольшими фунгицидными свойствами в подавлении фитопатогенов сои и кукурузы рода *Fusarium* обладает композиция экстрактов корня и листьев ревеня: 0,5%L + 3%R – для кукурузы и 0,5%L + 1%R – для сои. Биологическая эффективность этой композиции (71,7-76,8%) выше, чем эффективность составляющих ее экстрактов в отдельности. Экстракты корня и листьев ревеня обеспечили:

- опосредованное действие на контроль корневых гнилей сои рода *Fusarium*, путем индукции системной резистентности этих культур к названному патогену;
- прямое фунгицидное действие против фитопатогенов трех видов рода *Fusarium*;
- стимулирующее действие на всхожесть и развитие проростков сои и кукурузы.

С целью оптимизации композиций, мы изучили свойства экстрактов корня ревеня в сочетании с микроэлементами. В наших исследованиях, для предпосевной обработки семян сельскохозяйственных культур был использован экстракт корня отдельно, и в сочетании с комплексом микроэлементов. Микроэлементы в хелатной форме (хелаты) получают при взаимодействии

металлов (микроэлементов) с природными органическими кислотами и обладают высокой биологической активностью в тканях растительного организма. В этих случаях растения используют от 40 до 100% всех микроэлементов, в то время как растения усваивают лишь несколько процентов от внесенного в почву микроэлемента. В наших опытах дозы добавок к экстракту были достаточно малы и составили в одном литре использованных рабочих растворов не более 0,3 мг (0,03%) Cu^{2+} ; 0,1 мг (0,01%) микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}); 2 мл (0,2%) спирта. В качестве эталона использовали препарат Рекол (5%), в контроле – обработка семян водой (Таблица 4.3).

Таблица 4.3. Влияние экстракта корня (R) *Rheum rhaponticum* L. в сочетании с микроэлементами на всхожесть семян и размеры проростков кукурузы

Вариант	Энергия прорастания, %	Всхожесть семян, %	Размер корешка, см	Размер стебелька, см
Контроль	81,7	85	7,3	3,8
Эталон (Recol 5%)	80,0	90,0	3,8	3,5
V1 – 0,4% (Cu^{2+} + R)	73,3	90,0	6,8	3,5
V 2 – 1,0% (Cu^{2+} + R)	81,7	90,0	7,0	4,2
V 3 – 0,4% (Zn , Fe , Mg , B + R)	86,7	93,5	8,5	4,5
V 4 – 1,0% (Zn , Fe , Mg , B + R)	85,0	95,0	8,6	4,4
V5 – 0,4% R	85,0	88,5	8,4	4,0
V6 – 1,0% R	78,3	90,0	6,6	3,5
НСР _{0,05}	7,6	7,5	1,1	0,6

Значительное фитостимулирующее действие на всхожесть семян кукурузы сахарной (на 8,5-10%), размер корешка (на 17,8%) и стебелька проростков (на 18,1%) в сравнении с контрольными значениями проявил экстракт корня ревеня в сочетании с микроэлементами (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R), варианты V3 и V4. Было доказано, что добавка меди к экстракту V1, вызвала некоторый ингибирующий эффект на энергию прорастания и размер корешка. Таким образом, нами было установлено, что предпосевная обработка семян кукурузы композицией из экстракта корня ревеня и микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) в концентрации 0,2%, оказывает устойчивое стимулирующее действие на все биометрические показатели всхожести семян, что позволило сделать композицию более рентабельной и эффективной, чем использование чистого экстракта.

4.3. Определение биологической эффективности композиций на основе экстрактов из *Rheum rhaponticum* L. для контроля мучнистой росы культур *Cucurbitaceae* в закрытом грунте

Для изучения биологических свойств экстракта корня *R. rhaponticum*, в контроле мучнистой росы мы провели исследования в условиях закрытого грунта на рассаде овощных культур *Cucurbitaceae* (дыня, кабачок) с использованием искусственного заражения. Суспензию конидий возбудителя мучнистой росы на огурцах подготовили путем отделения больных листьев растения огурца и смыва конидий. С помощью микроскопа водную суспензию

скорректировали до $2,0 \times 10^5$ конидий/мл. Зараженные методом опрыскивания растения помещали в рандомизированных блоках в условиях закрытого грунта. Опыты проводились в 4-кратной повторности. Степень заражения (в баллах) оценивали в соответствии со стандартной методикой (Рисунок 4.2).

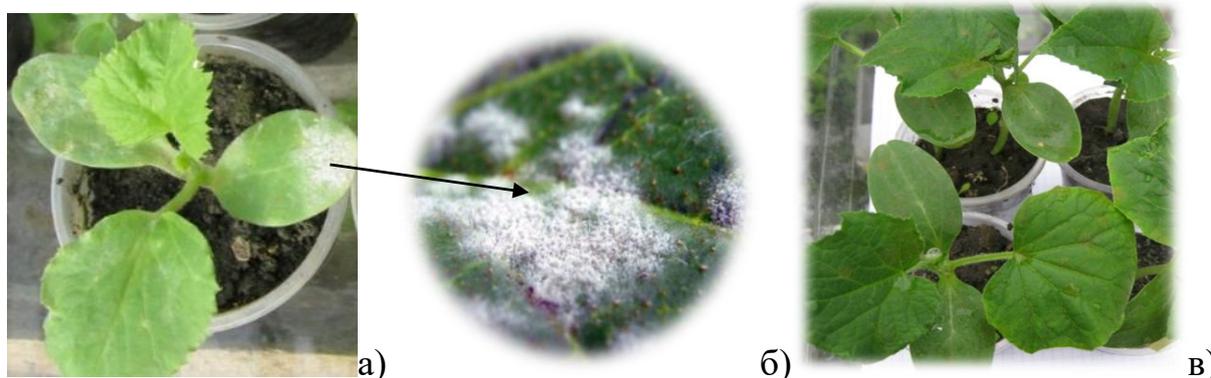


Рис. 4.2. Симптомы поражения растений мучнистой росой: а) контрольные растения; б) мицелий на листьях; в) растения, обработанные экстрактами

В результате исследований было отмечено, что вследствие обработок инфицированной рассады экстрактом корня ревеня, распространение болезни по растению прекращалось. В то же время, в контроле после инфицирования листья покрывались колониями мучнистой росы, и нарастание болезни приводило к гибели растений в течение месяца. Было доказано, что биологическая эффективность экстракта росла прямо пропорционально концентрации (Рисунок 4.3).

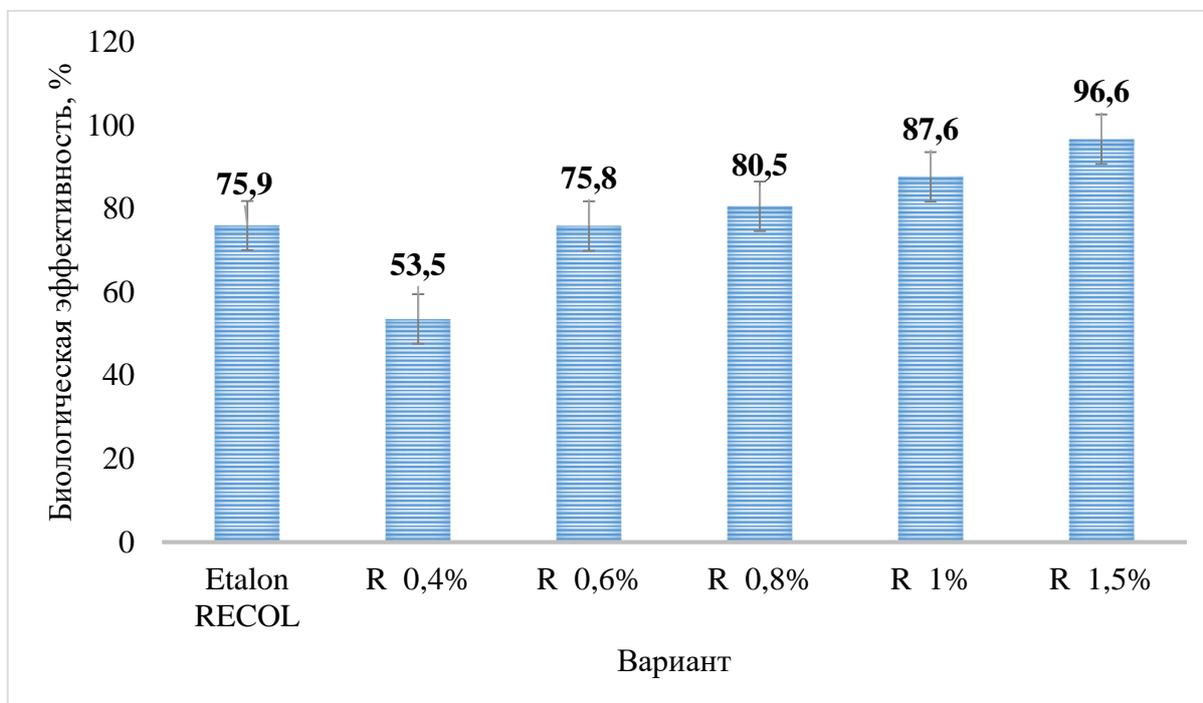


Рис. 4.3. Средние значения биологической эффективности экстракта корня ревеня на рассаде *Cucumis melo* L. и *Cucurbita pepo* L. в контроле мучнистой росы ($НСР_{0,05}=9,1$)

Полученные результаты соотносятся с данными других исследователей, которые утверждали, что ингибирование прорастания спор зависит от концентрации экстракта [24]. Опытным путем было доказано, что экстракт корня ревеня ингибирует прорастание спор (непосредственное действие), а также активирует иммунный ответ широкого спектра действия (индуктор резистентности). Антрахинонпроизводные обеспечивают контроль мучнистой росы на бахчевых культурах, главным образом, вызывая накопление фунгицидных фенольных соединений в растении [25]. Такое действие экстракта корня ревеня особенно важно для защиты растения от перезаражения мучнистой росой в течение всего периода вегетации.

4.3.1. Определение модулирующего действия экстракта корня *Rheum rhabarbaricum* L. на физиологические показатели листьев рассады дыни

Было установлено, что регулярные обработки рассады растений *Cucurbitaceae* экстрактом корня ревеня (1-1,5%) привели к усилению интенсивности зеленой окраски листьев. Нами были проведены измерения индекса пропускания хлорофилла обработанных и контрольных листьев с помощью прибора CM 1000 Chlorophyll Meter. Установлено, что индекс растет до достижения значения концентрации экстракта R – 1,5% (157,3 относительных единиц). В контроле индекс составляет 119,2 относительных единиц. При увеличении концентрации до 2% – индекс хлорофилла опускается ниже контрольных значений в 1,2 раза (98,4 относительных единиц). Было доказано, что дальнейшее увеличение концентрации экстракта корня ревеня в рабочем растворе приводило к появлению признаков фитотоксичности, которые проявились появлением желтой каемки на листьях и снижением индекса пропускания хлорофилла (Рисунок 4.4).

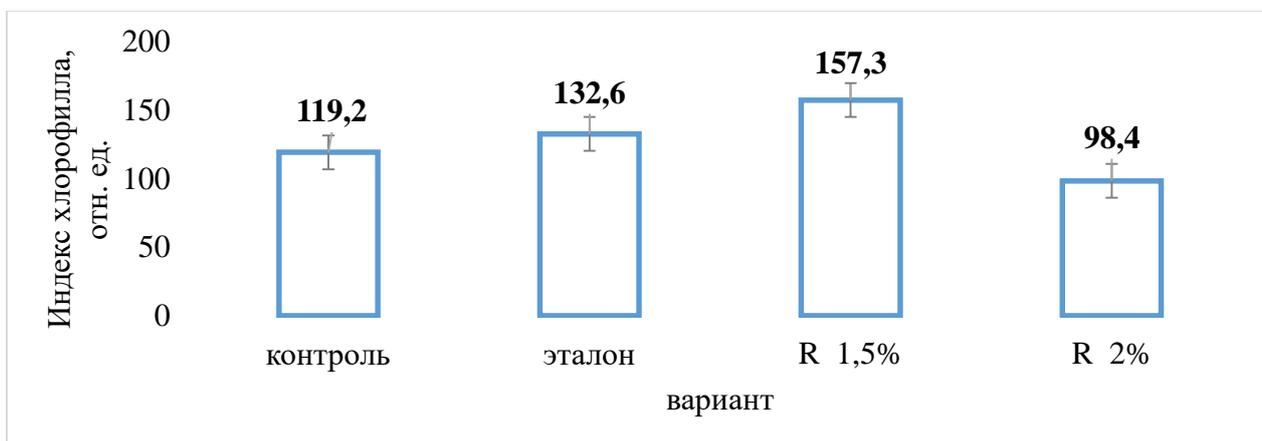


Рис. 4.4. Индекс пропускания хлорофилла листьев *Cucumis melo* L.

Это явление объясняется тем, что конденсат водяных паров, оседая на поверхности листьев, растворяет остатки экстракта и стекает к краям листа, образуя перенасыщенный раствор фенольных веществ, и растение реагирует на него резким снижением количества хлорофилла. Таким образом, было установлено, что оптимальная концентрация экстракта корня ревеня для подавления развития мучнистой росы и повышения индекса пропускания хлорофилла на рассаде

тыквенных культур в условиях защищенного грунта равна 1,0-1,5%, и ее биологическая эффективность составляет 87,6-96,6% [27-28].

4.3.2. Определение биологической эффективности композиций на основе экстрактов корня *Rheum rharonticum L.*, в сочетании с микроэлементами, для контроля мучнистой росы культур *Cucurbitaceae* в закрытом грунте

После того, как был отмечен фунгицидный и стимулирующий эффект чистого экстракта корня ревеня, был предпринят ряд экспериментов с композициями, состоящими из экстракта корня ревеня, в сочетании с микроэлементами в хелатной форме (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}), для обработки рассады тыквенных культур в закрытом грунте. Целью было определение не только непосредственного фунгицидного действия композиций на конидии мучнистой росы, но и появление иммунной устойчивости листьев к мучнистой росе.

Необходимо было решить следующие задачи:

- определить влияние интервала времени (за 72 и 4 часа) между обработкой экстрактами рассады овощных культур сем. *Cucurbitacea* и искусственным их заражением (*S. fuliginea*) на биологическую эффективность композиций на основе экстракта корня ревеня;
- определить влияние микроэлементов, в сочетании с экстрактом корня ревеня, в защите от мучнистой росы.

Для решения этих задач были составлены 6 вариантов композиций на основе экстракта корня ревеня на 4-х видах рассады тыквенных культур (тыква, дыня, кабачок, огурец), в 4-х кратной повторности: V1 – 1,0% (Cu^{2+} + R); V2 – 1,5% (Cu^{2+} + R); V3 – 1,0% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V4 – 1,5% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V5 – 1,0% R; V6 – 1,5% R. Контрольные растения не обрабатывали. В качестве эталона был использован экологически безопасный препарат Рекол (5%).

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что фунгицидная активность экстракта корня ревеня достаточно высока. Его биологическая эффективность в концентрациях 1,0-1,5% была стабильна при обоих интервалах заражения и составила в среднем значении 90,1-92,0%, что выше эталонных значений на 8%. Было доказано, что фунгицидные и иммуностимулирующие свойства экстракта корня ревеня (V5 и V6) надежно защитили все виды рассады овощных культур сем. *Cucurbitacea* от мучнистой росы. Таким образом, можно сделать вывод, что экстракт корня ревеня является не только: а) прямым фунгицидом в отношении конидий мучнистой росы, но и б) индуктором системной резистентности рассады, повышающим чувствительность растений в целом к быстрому реагированию на перезаражение инфекцией мучнистой росы.

Было установлено, что обработка рассады за 4 часа до заражения композициями из экстракта корня ревеня и микродоз меди, значительно снизила степень поражения рассады мучнистой росой, в сравнении с контролем (кабачок на 42%, огурец на 11,2%, дыня на 26,2%, тыква на 32,5%). Доказано, что сочетание концентрации экстракта корня ревеня, уменьшенной вдвое, с микродозами меди в рабочем растворе (V1 и V2), создает эффект, при котором фунгицидная активность при обработке растений за 4 часа до заражения их

суспензией *S. fuliginea* (89,3-92,2%) выше, чем при обработке за 72 часа (63,0-63,6%). Следовательно, добавка микродоз меди к экстракту ревеня снизила иммуностимулирующую активность композиции.

В то же время было установлено, что сочетание экстракта корня ревеня с микроэлементами Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} (V3 и V4) усилило иммуностимулирующий эффект обработок (листовая подкормка). Показатели биологической эффективности этих композиций оказались выше (90,3-91,5%) при обработке растений рассады за 72 часа, чем при обработке за 4 часа (85,7%) до заражения их суспензией *S. fuliginea*. Разницу значений можно объяснить тем, что, при обработке рабочим раствором за 72 часа до заражения, микроэлементы проникали внутрь листьев и укрепляли защитные свойства листьев в отношении фитопатогена мучнистой росы. Однако попадание питательных микроэлементов на листья, непосредственно, перед заражением (за 4 часа), способствует питанию и развитию фитопатогена мучнистой росы, попадающего на лист при заражении. При сниженной вдвое концентрации экстракта корня ревеня, попадание на листья питательных микроэлементов поддерживает развитие инфекции (Таблица 4.4).

Таблица 4.4. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы

Вариант	Биологическая эффективность, %		
	Интервал 72 часа	Интервал 4 часа	Среднее значение
Эталон (Recol – 5%)	80,8	86,7	83,9
V1 – 1,0% (Cu + R)	63,0	92,2	77,6
V2 – 1,5% (Cu + R)	63,6	89,3	76,5
V3 – 1,0% (Zn, Fe, Mg, B + R)	90,3	85,7	88,0
V4 – 1,5% (Zn, Fe, Mg, B + R)	91,5	85,7	88,6
V5 – 1,0% R	94,9	90,1	92,0
V6 – 1,5% R	93,5	86,7	90,1
НСР _{0,05}	6,7	4,9	9,5

Итак, прямое фунгицидное действие композиции (биологическая эффективность 92,2%) увеличивается при добавлении микродоз антифитопатогенного агента (Cu^{2+}); а иммуностимулирующие свойства композиции (биологическая эффективность 91,5%) усиливаются при добавлении к экстракту корня ревеня микродоз микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}). Таким образом, обобщив результаты можно сделать заключение, что снижение дозы экстракта корня ревеня при сочетании его с микроэлементами, возможно, но не обязательно. Микроэлементы могут сделать композицию рентабельнее, но наиболее эффективную часть композиций составляют биологически активные вещества экстракта корня ревеня [26-28].

4.3.3. Определение биологической эффективности экстрактов корня и листьев *Rheum rhabonticum* L. для контроля мучнистой росы на рассаде *Cucurbitaceae*

В продолжение исследований более тщательно были изучены все возможности использования растений *R. rhabonticum*, включая листовые

пластинки, которые содержат большой спектр биоактивных веществ (фенолы, флавоноиды, органические кислоты). Опыты по разработке эффективных композиций на основе экстрактов корней и листьев ревеня были проведены с целью защиты рассады огурца сорта «Родничок» от мучнистой росы в закрытом грунте по описанной выше методике. Рассада, выращенная в пластиковых емкостях с почвенной смесью, на стадии 4-х настоящих листьев была обработана рандомизированно, в 4-х кратной повторности, следующими составами: V1 – 1% L; V2 – 4% L; V3 – 1% R; V4 – 2% R; V5 – 1% L + 1% R; V6 – 2% R + 4% L; V7 – 1% L + 2% R; V8 – 4% L + 1% R. В качестве эталона был использован экологически безопасный препарат Рекол (5%). Контрольные растения не обрабатывали (Таблица 4.5).

Таблица 4.5. Биологическая эффективность экстрактов корня (R) и листьев (L) *Rheum raphonticum* L. в защите от мучнистой росы на рассаде *Cucumis sativus* L.

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Интервал 4 часа					
1	Контроль	1,1	55,0	27,5	
2	Эталон	0,5	25,0	12,5	54,6
3	V1	0,5	32,5	12,5	54,6
4	V2	0,2	25,0	5,0	81,8
5	V3	0,3	7,5	7,5	72,7
6	V4	0,1	32,5	2,5	90,9
7	V5	0,5	25,0	12,5	54,6
8	V6	0,2	32,5	5,0	81,8
9	V7	0,06	7,5	1,5	94,6
10	V8	0,06	7,5	1,5	94,6
	HCP _{0,05}			3,3	12,1
Интервал 72 часа					
1	Контроль	1,1	55,0	27,5	
2	Эталон	0,3	50,0	7,5	72,7
3	V1	0,6	32,5	15,0	45,5
4	V2	0,5	25,0	12,5	54,6
5	V3	0,4	25,0	10,0	63,6
6	V4	0,06	17,5	1,5	94,6
7	V5	0,7	25,0	17,5	36,4
8	V6	0,5	42,5	12,5	54,6
9	V7	0,3	32,5	7,5	72,7
10	V8	0,2	17,5	5,0	81,8
	HCP _{0,05}			4,5	13,2

Варианты композиций, оптимизирующие защиту растений от мучнистой росы в сравнении с эталоном:

- V2 (4% L) – биологическая эффективность 81,8% при обработке за 4 часа до заражения, что на 27,2% выше, чем эффективность экстракта листьев в концентрации 1%. Отмечено, что при обработке за 4 часа до заражения, значения биологической эффективности экстракта листьев в концентрации 1% были на

9,1% выше, а в концентрации 2% – на 27,2% выше, чем значения биологической эффективности экстракта при обработке за 72 часа до заражения. Это объясняется значительным антисептическим действием 4%-ной концентрации экстракта листьев, непосредственно, перед попаданием фитопатогена на листья. Можно сделать вывод, что экстракт листьев обладает антисептическими, а не иммуностимулирующими свойствами.

- V4 (2% R) – экстракт корня ревеня в концентрации 2%, при обработке за 4 часа до заражения с эффективностью 90,9%, и при обработке за 72 часа до заражения с эффективностью 94,6%, стабильно и достоверно защищал рассаду от мучнистой росы. Была подтверждена стабильная фунгицидная и иммуностимулирующая активность экстракта корня ревеня в концентрациях 1-2%, которая, снизила степень поражения рассады огурца на 17,7-26%.

- V8 (4% L + 1% R) – сочетание экстракта корня ревеня с экстрактом листьев ревеня, при обработке за 4 часа до заражения (94,6%), и при обработке за 72 часа до заражения (81,8%), достоверно проявлял профилактическое действие в защите рассады (среднее – 88,2%) и, одновременно, способствовал увеличению размера растений и листьев. Обнаружив, что фунгицидные свойства экстракта корня ревеня сочетаются со стимулирующими свойствами экстракта листьев, мы сделали заключение, что композиция является полифункциональной и способствует оптимизации защиты и фитостимуляции рассады огурца [27].

Было установлено, что биологическая эффективность экстракта корня ревеня (от 68,2% до 92,8%) не зависит от времени между обработкой и заражением, а возрастает прямо пропорционально концентрации, проявляя иммуностимулирующую и фунгицидную активность, обеспечивая защиту рассады огурца от мучнистой росы (Рисунок 4.5).

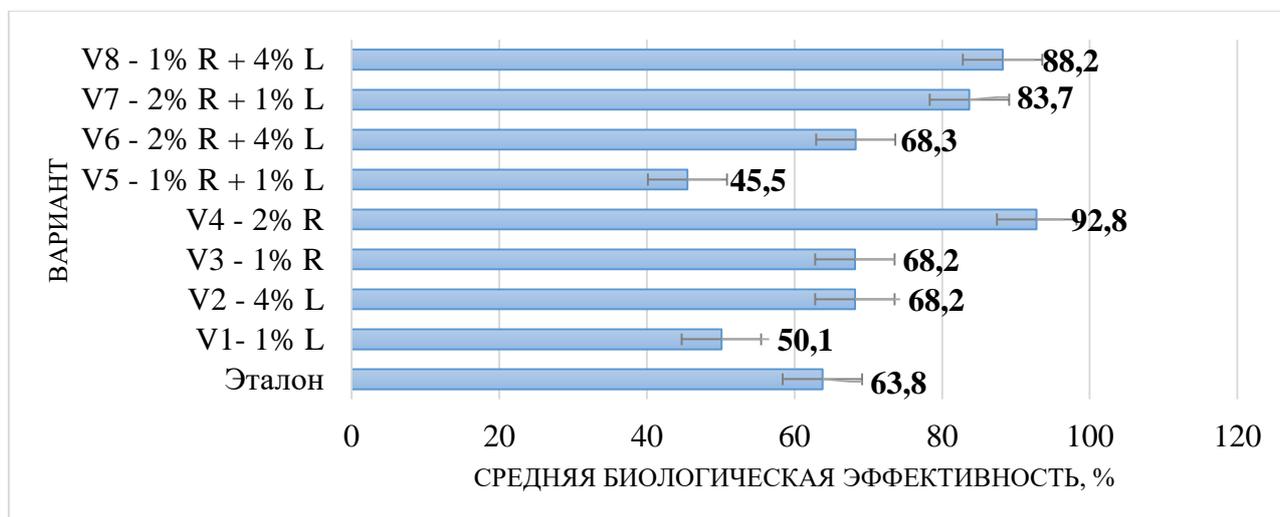


Рисунок 4.5. Сравнительные значения биологической эффективности экстрактов корня (R) и листьев (L) *R. rhaponticum* L. в контроле мучнистой росы на рассаде *Cucumis sativus* L. (НСР_{0,05} = 10,2)

Резюмируя вышеизложенные исследования можно утверждать, что применение полифункциональных композиций на основе экстрактов ревеня

является перспективным направлением исследований для разработки средств защиты растений и рентабельным, так как экстракты создаются из отходов производства черешков ревеня (Рисунки 4.6, 4.7).



Рис. 4.6. Биологические свойства экстракта из листьев *Rheum raphanistrum* L.



Рис. 4.7. Биологические свойства экстракта из корня *Rheum raphanistrum* L.

Во-первых, экологически безопасные средства защиты позволяют уменьшить количество химических обработок культуры огурца. Создание и использование средств защиты на основе экстракта уменьшит загрязнение экосистемы, а индуцируемая устойчивость позволит растениям снизить энергетические затраты на защиту от патогенов и сохранить энергию для роста, развития и образования плодов. Во-вторых, композиция продемонстрировала

помимо прямого фунгицидного действия, еще и высокую эффективность в стимулировании резистентности культур к патогенам рода *Fusarium* и *S. fuliginea*.

Как известно, «анти-фитопатогенный агент» представляет собой агент, который модулирует рост патогена растения или предотвращает заражение растения патогеном. Устойчивость фитопатогенов к фунгицидам является распространенным явлением. Когда фунгицид часто используется, целевой патоген может адаптироваться к нему из-за высокого давления отбора. Комбинация многофункциональных компонентов в смеси или в ротации может обеспечить аддитивные или даже синергетические взаимодействия, и при этом достигается высокий уровень контроля заболевания с уменьшенной дозировкой каждого отдельного компонента, что в свою очередь, уменьшает риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений организмов. Сочетание нескольких многофункциональных продуктов (экстракт корня, экстракт листьев, микроэлементы) усиливает пестицидный эффект композиций, и риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений организмов уменьшается.

Общие выводы и рекомендации

Общие выводы

1. Определены особенности выращивания растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова и выявлены основные болезни и вредители. Оптимизировано размножение ревеня включением в существующую технологию нового элемента – предпосевной обработки семян биопрепаратами на основе грибов рода *Trichoderma*, увеличивающего лабораторную всхожесть семян в 2 раза [19, 20], (3.1, 3.2).

2. Выявлены зоны локализации антраценпроизводных соединений в паренхиме вторичной коры и сердцевинных лучей. Разработана схема экстракции биоактивных веществ из *R. rhaponticum*. С помощью спектрофотометрии и ВЭЖХ определено, что количество флавоноидов в экстракте корня *R. rhaponticum*, выращенного в биоклиматических условиях Республики Молдова, составило 202,46 мг/100г, в экстракте листьев – 86,45 мг/100г; количество фенолов в экстракте корня составило 1233,9 мг/100 г, в экстракте листьев – 588,8 мг/100 г [11, 21], (3.3, 3.4).

3. Определена инсектицидная активность водно-этанольных экстрактов корня (44,5%), соцветий (48,5%) и листьев ревеня (57,8%) для подавления вредителей из семейства *Aphididae* (*Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop., *Schizaphis graminum* Rondani.) и установлено, что концентрация 80% экстракта корня снижает в два раза отрождение имаго зерновой моли, в сравнении с контролем [22], (3.5).

4. Установлено, что в лабораторных условиях экстракт корня *Rheum rhaponticum* в концентрациях выше 10% обладает прямым фунгицидным действием в отношении фитопатогенов кукурузы *Fusarium graminearum* Schw. и

Fusarium moniliforme Sheldon, и патогена сои *Fusarium sporotrichiella* Bil. Определена композиция экстрактов корня и листьев ревеня, обладающая фунгицидными и иммуностимулирующими свойствами в подавлении фитопатогенов сои и кукурузы рода *Fusarium*, биологическая эффективность которой (71,7-76,8%) выше, чем эффективность составляющих ее экстрактов в отдельности [23], (4.1, 4.2).

5. Определено, что экстракт листьев *Rheum rhaponticum* в концентрации 0,5% обладает действием, стимулирующим всхожесть семян однодольных (кукуруза) и двудольных (соя) растений. Установлено, что предпосевная обработка семян сахарной кукурузы композицией из экстракта корня *Rheum rhaponticum* и микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) в концентрации 0,2%, оказывает устойчивое стимулирующее действие на все биометрические показатели всхожести семян [21], (4.2.).

6. Установлена оптимальная концентрация экстракта корня ревеня в рабочем растворе (1,0-1,5%) для подавления развития мучнистой росы и повышения индекса хлорофилла на рассаде тыквенных культур в условиях защищенного грунта и определена ее биологическая эффективность (87,6-96,6%). Доказан иммуностимулирующий эффект экстракта корня ревеня в концентрации 1,5-2,0%, биологическая эффективность которого, при обработке листьев рассады тыквенных культур за 4 и 72 часа до заражения, в среднем равен 89,3%, обеспечивая достоверную и стабильную защиту рассады от мучнистой росы. Добавление микродоз микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) увеличивает иммуностимулирующие свойства композиции (биологическая эффективность 91,5%), а добавление микродоз анти-фитопатогенного агента (Cu^{2+}) увеличивает прямое фунгицидное действие (биологическая эффективность 92,2 %) [26], (4.3).

7. Полученный результат, который способствует решению важной научной проблемы в диссертации, заключается в биологическом обосновании способности экстрактов, полученных из *Rheum rhaponticum*, проявлять фунгицидную, детеррентную, инсектицидную и стимулирующую типы активности, что привело к разработке композиций на основе экстрактов корня и листьев ревеня, которые являются перспективными и рентабельными для стимуляции прорастания семян, контроля фитопатогенов (*Fusarium* и *Sphaerotheca*) и вредителей (*Aphididae*, *Sitotroga*). Исследования позволили определить биологическую эффективность композиций в защите сельскохозяйственных культур. Пестицидный эффект композиций усиливается за счет сочетания нескольких продуктов (экстракт корня, экстракт листьев, микроэлементы), и риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений организмов уменьшается [27-28].

Практические рекомендации

1. Рекомендуется экстракцию биологически активных веществ из корня и листьев ревеня проводить этанолом 70%, на водяной бане, применять мацерацию и фильтрование. Возраст корней должен быть более 3 лет.

2. Рекомендуется использовать для предпосевной обработки семян экстракт корня (концентрация 1-3%) и листьев (концентрация 0,5%) ревеня. Сочетание экстракта с микроэлементами (0,01%) в хелатной форме (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) увеличивает показатели всхожести.

3. Рекомендуется использовать экстракт листьев ревеня для защиты от тли (биологическая эффективность - 57,8 %), в сочетании с инсектицидами.

4. Рекомендуется применять экстракт корня ревеня (концентрация 1,5-2,0%) для контроля мучнистой росы на культуре огурца в условиях закрытого грунта. В сочетании экстракта корня ревеня с микродозами меди (0,03%), композиция становится более рентабельной.

Библиография

1. WILIER, H., LERNOUD, J. The World of Organic Agriculture. Statistics and Emerging Trends 2016. In: *Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, and IFOAM – Organics International*. Bonn, 2016, 340 p. ISBN 978-3-03736-041-5.
2. ГРИГОРУК, В. В., КЛИМОВ, Е. В. Развитие органического сельского хозяйства в мире и Казахстане, продовольственная и сельскохозяйственная организация объединенных наций. Анкара, 2016, 168 с. ISBN 978-92-5-409184-2.
3. Kobe organic and Kobe non-organic: 10% *Rheum officinale* Baill plant extract: Efficacy on the tomato powdery mildew *Oidium lycopersici* - Semi-field test, 2011, p. 14.
4. RAJKOVIC, S. et al. VEgard – botanical fungicide. In: *IV International Symposium „Agrosym“*. 2013, pp. 511-516. ISBN 9789995575137.
5. ЗАЙЦЕВА, Н. В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rútex confértus* Willd.). Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Самара, 2014, 140 с.
6. European Pharmacopoeia. 8th edition. Strasbourg: EDQM, 2013.
7. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. М.: 2015. Федеральная электронная медицинская библиотека. [Электронный ресурс]. (просмотрено 04.05.2017). Режим доступа: <http://www.femb.ru/feml>
8. БОБЕЙКЭ, В. Фармакогнозия. Анализ лекарственного растительного сырья. Учебно-методическое пособие. Кишинэу, 2007, 100 с.
9. ТИХОНОВ, В.Н. и другие. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты. Часть II: учебное пособие. Томск, 2007, с. 19-20. Режим доступа: http://kingmed.info/knigi/Farmatsevtika/Farmakognoziya/book_3704/Lekarstvennie_rasteniya_sire_i_fitopreparati_Chast_1-Tihonov_VN_Kalinkina_GI_Salnikova_EN-2004-djvu
10. КАРПУК, В.В., Фармакогнозия: учеб. пособие. Минск: БГУ, 2011, с. 249-250. ISBN 978-985-518-430-1.
11. ГЛАДКАЯ, А.А., НАСТАС, Т.Н. Возможности использования экстракта из корня *Rheum* в защите от фитопатогенов семян сои и кукурузы. В:

- Genetica, Fiziologia si Ameliorarea plantelor. Materialele Conferintei stiintifice international, edicia a VI-a.* Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2.
12. HAI, S., KOIVUNEN, M., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 20140073675, 2014, Marrone Bio Innovations Incorporation, (просмотрено 13.08.2017). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>
 13. HAI S., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 20140073675, 2014, Marrone Bio Innovations Incorporation, (просмотрено 28.08.2016). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>,
 14. ТОРОПОВА, Е.Ю., КИРИЧЕНКО, А.А. Фитосанитарный экологический мониторинг: Методические указания. Новосибирск, 2012, 38 с. ISBN 978-5-94477-115-5.
 15. КОЙШЫБАЕВ, М., МУМИНДЖАНОВ, Х. Методические указания по мониторингу болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур. Анкара, 2016, 28 с. ISBN 978-92-5-409180-4.
 16. ЗЕЗЮЛИНА, Г. Фитопатология. Методические указания, Гродно, 2003, 40 с. ISBN 978-985-7168-25-5.
 17. РАКУТЬКО, С. и другие. Применение измерителя ССМ-200 для оперативного определения содержания хлорофилла в листьях растений светокультуры. В: *Теоретический и научно-практический журнал, ИАЭП.* Санкт-Петербург, 2017, Вып. 92, с. 17-24. ISSN 0131-5226
 18. ЩЕРБАКОВА, Т., Биотехнология производства и применения биопрепарата на основе гриба *Trichoderma virens* для защиты сои от корневых гнилей. Автореферат на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Кишинев, 2013, 30 с.
 19. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. Особенности выращивания *Rheum rhaponticum* в условиях Молдовы. В: *Stiinta agricola.* Кишинэу, 2017, nr.1, pp. 49-54. (катег. В), ISSN 1857-0003
 20. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т. Влияние на всхожесть предпосевной обработки семян растений рода *Rheum* экологическими препаратами. В: *Международный научно-исследовательский журнал, Успехи современной науки.* Москва, 2017, Том 1, №9, с. 181-186. (катег. В) ISSN 2412-6608.
 21. ГЛАДКАЯ, А., НАСТАС, Т., ЩЕРБАКОВА, Т., ЗАВАТИН, М., Фунгицидные и стимулирующие свойства экстрактов из корней и листьев ревеня в контроле фитопатогенов рода *Fusarium* семян сои и кукурузы. В: *Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică, Simpozionul Științific Internațional.* Chișinău, 2018, pp. 88-91. ISBN 978-9975-108-52-2.
 22. GLADCAIA, A., ZAVATIN, M., VOLOSCIUC, L., Determination of *Rheum rhaponticum* L extracts insecticidal activity for *Aphididae* pests controlling. In: *Studii si Cercetari, Biologie.* Romania, Bacau, 2018, vol. 27, Nr.2, pp. 7-10. (катег. В) ISSN: 2457-5178.

23. ГЛАДКАЯ, А.А., НАСТАС, Т.Н. Возможности использования экстракта из корня *Rheum* в защите от фитопатогенов семян сои и кукурузы. In: *Genetica, Fiziologia si Ameliorarea plantelor, Materialele Conferintei stiintifice internationale*. Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2.
24. KIEFER, I., SLUSARENKO, A. The pattern of systemic acquired resistance induction within the *Arabidopsis rosette* in relation to the pattern of translocation. In: *Plant Physiology*. 2003, vol. 132, nr. 2, pp. 840-847. ISSN 0066-4294.
25. KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS et al., Efficacy of Milsana, a formulated plant extract from *Reynoutria sachalinensis*, against powdery mildew of tomato (*Leveillula taurica*). In: *Department of Pesticides Control and Phytopharmacy*. Greece, 2005, vol. 21 pp.1-2.
26. ГЛАДКАЯ, А. Исследование лечебного и профилактического действия экстракта из корня *Rheum rhaponticum* с добавлением микроэлементов против *Sphaerotheca fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitacea* в теплице. В: *Studia Universitatis Moldaviae*. Chişinău, 2017, vol. 6, nr. 106, с. 47-52. (катег. В) ISSN 1814-3237.
27. ГЛАДКАЯ, А.А. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев *Rheum rhaponticum* для контроля *Sphaerotheca fuliginea* на рассаде *Cucurbitaceae* в закрытом грунте. В: *Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică, Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Simpozionul Științific Internațional*. Chişinău, 2018, pp.17-19. ISBN 978-9975-108-52-2.
28. ГЛАДКАЯ, А.А. Исследование растительного сырья *Rheum rhaponticum* и определение биологической эффективности экстрактов для защиты рассады огурца от мучнистой росы. В: *Перспективы лекарственного растениеводства, Международная научная конференция*. Москва, 2018, с. 388-395. ISBN 978-5-87019-084.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Статьи в научных журналах:

в зарубежных рецензируемых журналах

1. GLADCAIA, A., VOLOSCIUC, L. The biological substantiation of application of antimicrobial properties of *Rheum rhaponticum* in plant protection. В: *Revue Scientific Study & Research, Biology*. Romania, Bacău, 2016, vol. 25, nr. 1, pp. 7-11. (катег. В). ISSN: 1224-919X eI ISSN: 2457-5178.
2. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т. Влияние на всхожесть предпосевной обработки семян растений рода *Rheum* экологическими препаратами. В: *Международный научно-исследовательский журнал, Успехи современной науки*. Москва, 2017, Том 1, №9, с. 181-186. (катег. В). ISSN 2412-6608.
3. GLADCAIA, A., ZAVATIN, M., VOLOSCIUC, L., Determination of *Rheum rhaponticum* L extracts insecticidal activity for *Aphididae* pests controlling. В: *Studii si Cercetari, Biologie*. Romania, Bacau, 2018, vol. 27, Nr.2, pp. 7-10. (катег. В). ISSN: 1224-919X eI ISSN: 2457-5178.

Статьи в национальных профильных журналах, с указанием категории

4. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. Особенности выращивания *Rheum rhabarbaricum* в условиях Молдовы. В: *Stiinta agricola*. Chişinău, 2017, nr.1, pp. 49 – 54. (катег. В). ISSN 1857-0003.
5. GLADCAIA, A., ŞERBACOVA, T., MERINIUC, L., NASTAS. T. Advantages of economic cultivation of the genus *Rheum* plants in the republic of Moldova. In: *Journal of Botany*. Chişinău, 2017, vol. 9, nr. 1, issue14, p. 82-86. (катег. В), ISSN 1857-09X.
6. ГЛАДКАЯ, А. Исследование лечебного и профилактического действия экстракта из корня *Rheum rhabarbaricum* с добавлением микроэлементов против *Sphaerotheca fuliginea* на рассаде культур сем. *Cucurbitaceae* в теплице. В: *Studia Universitatis Moldaviae*. Chişinău, 2017, vol. 6, nr. 106, с. 47-52. (катег. В) ISSN 1814-3237.

Статьи в научных сборниках

В работах научных интернациональных конференций (зарубежных)

7. ГЛАДКАЯ, А.А., ВОЛОЩУК, Л.Ф., ТОДИРАШ, В.А. Оценка фунгицидной активности экстракта из корня ревеня (*Rheum*) против мучнистой росы. В: *Материалы международной научной конференции*. Краснообск, 2013, с. 390-392. ISBN 978-5-906143-19-8.
8. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. Влияние предпосевной обработки семян ревеня микробиологическими суспензиями на всхожесть. В: *Региональное плодоводство и овощеводство: состояние, проблемы, перспективы, Материалы научно-практической конференции*. Омск, 2014, с. 94-97. ISBN 978-5-600-00137-4.
9. ГЛАДКАЯ, А., ВОЛОЩУК, Л., ТОДИРАШ, В. Исследование биологической эффективности экстракта корня ревеня (*Rheum*) в защите тыквенных культур от мучнистой росы. В: *Региональное плодоводство и овощеводство, Материалы Региональной научно-практической конференции*. Омск, 2014, с. 188-191. ISBN 978-5-600-00137-4.
10. ГЛАДКАЯ, А., ВОЛОЩУК, Л., ТОДИРАШ, В. Оценка фунгицидной активности экстракта из корня ревеня против мучнистой росы на культурах сем. *Cucurbitaceae*. В: *Региональное плодоводство и овощеводство, Материалы Региональной научно-практической конференции*. Омск, 2014, с. 180-184. ISBN 978-5-600-00137-4.
11. ГЛАДКАЯ, А., ТОДИРАШ, В., СТРАТУЛАТ, Т. Исследование биологической эффективности фенольных соединений экстракта корня *Rheum rhabarbaricum* L в контроле мучнистой росы. В: *Фенольные соединения, Сборник материалов IX Международного симпозиума*. Москва, 2015, с. 247-251. ISBN 978-5-9906617-8-3.
12. ГЛАДКАЯ, А., ВОЛОЩУК, Л. Биологическая аргументация применения антимикробных свойств экстракта из корня *Rheum rhabarbaricum* в защите растений. В: *Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС, Международная научно-практическая конференция*. Большие Вяземы, 2016, с. 332-339. ISBN 978-5-98467-015-9.

13. ГЛАДКАЯ, А. Влияние предпосевной обработки микробиологическими суспензиями семян *Rheum rharonticum* на их всхожесть. В: *Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине, Международная научно-практическая конференция*. Москва, 2016, с. 203-206. ISBN 978-5-9243-0281-2.

14. ГЛАДКАЯ, А., НАСТАС, Т., ЩЕРБАКОВА, Т., ЗАВАТИН, М., Фунгицидные и стимулирующие свойства экстрактов из корней и листьев ревеня в контроле фитопатогенов рода *Fusarium* семян сои и кукурузы. В: *Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică, Simpozionul Științific*. Chișinău, 2018, pp. 88-91. ISBN 978-9975-108-52-2.

15. ГЛАДКАЯ, А.А. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев *Rheum rharonticum* для контроля *Sphaerotheca fuliginea* на рассаде *Cucurbitaceae* в закрытом грунте. В: *Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică, Simpozionul Științific Internațional*. Chișinău, 2018, pp.17-19. ISBN 978-9975-108-52-2.

16. ГЛАДКАЯ, А.А. Исследование растительного сырья *Rheum rharonticum* и определение биологической эффективности экстрактов для защиты рассады огурца от мучнистой росы. В: *Перспективы лекарственного растениеводства, Международная научная конференция*. Москва, 2018, с. 388-395. ISBN 978-5-87019-084-6.

В работах научных конференций (Республика Молдова)

17. ГЛАДКАЯ, А.А., ЩЕРБАКОВА, Т.И., ЛЕМАНОВА, Н.Б. Влияние предпосевной обработки семян суспензиями микроорганизмов на всхожесть ревеня и щавната. В: *Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного причерноморья, Международная научная конференция*. Тирасполь, 2012, с. 77-78. ISBN 978-9975-4062-8-4.

18. ГЛАДКАЯ, А. А., ЩЕРБАКОВА, Т. И. Влияние фенольных соединений экстракта из корня растений рода *Rheum* на сдерживание патогена *Fusarium sporotrichiella* (Bilal). В: *Protecția plantelor – realizări și perspective. Institutul de genetică, fiziologie și protecție a plantelor, Simpozionul Științific Internațional*. Chișinău, 2015, pp. 238-242. ISBN 978-9975-56-266-9.

19. ГЛАДКАЯ, А.А., НАСТАС, Т.Н. Возможности использования экстракта из корня *Rheum* в защите от фитопатогенов семян сои и кукурузы. В: *Genetica, Fiziologia si Ameliorarea plantelor, Materialele Conferintei stiintifice internationale, edicia a VI-a*. Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2.

Тезисы в работах научных интернациональных конференций (зарубежных)

20. GLADCAIA, A., STRATULAT, T., TODERASH, V. Investigation of biological efficiency of *Rheum rharonticum* L. root extract in protecting of *Cucurbitaceae* seedlings against powdery mildew. В: *XVIII International Plant Protection Congress*, Berlin (Germany), 2015, pp. 612. ISBN 978-3-9816508-7-7.

АННОТАЦИЯ

Гладкая Алла, “Биологическое обоснование использования экстрактов из растений рода *Rheum* в качестве средств защиты растений”. Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук, Кишинэу, 2019. Диссертация состоит из введения, четырех глав, основных выводов и рекомендаций, библиографии из 233 источников, 5 приложений, 120 страниц основного текста, 24 таблиц, 33 рисунка. Полученные результаты опубликованы в 20 научных работах.

Ключевые слова: экстракты *Rheum rhaponticum*, биологическая активность, *Cucurbitaceae*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Fusarium*, *Aphididae*, *Sitotroga cerealella*.

Область исследования: Биологические науки.

Цель работы: Определение состава биоактивных веществ в экстрактах из растений *R. rhaponticum* и оценка возможности их использования в качестве средств защиты растений.

Задачи: Разработка технологии выращивания растений рода *Rheum*; определение состава основных БАВ ревеня и способов их экстрагирования; оценка эффективности применения экстрактов ревеня в защите сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней.

Научная новизна и оригинальность: Выявлены зоны локализации и состав БАВ ревеня, разработан оптимальный способ их экстракции. Определены типы биологической активности экстрактов *R. rhaponticum* в защите от болезней и вредителей. Оптимизирована технология выращивания ревеня в условиях Республики Молдова.

Решенная важная научная проблема: состоит в научном обосновании способности экстрактов, полученных из *R. rhaponticum*, проявлять фунгицидную, стимулирующую, антифидантную, инсектицидную типы активности, что привело к разработке способов использования экстрактов для стимуляции прорастания семян, контроля фитопатогенов и вредителей и позволило определить их биологическую эффективность в защите растений.

Теоретическая значимость: Выделены основные действующие БАВ экстрактов ревеня и определен тип их действия на фитопатогены и вредителей.

Практическая значимость: Разработаны способы получения и применения экстрактов ревеня для защиты растений от патогенов и вредителей; оптимизирована технология выращивания ревеня в условиях Республики Молдова.

Внедрение научных результатов: Полученные результаты легли в основу курса биотехнологии в Молдавском Государственном Университете. Полученные экстракты прошли тестирование в хозяйстве GT “Vartic” для защиты тепличной плантации огурца гибрида «Артист F1» 2000 м² от мучнистой росы.

ADNOTARE

Gladcaia Alla „Argumentarea biologică a aplicării extractelor din plantele genului *Rheum* ca mijloc de protecție a plantelor”. Teza de doctor în științe biologice, Chișinău, 2019.

Teza constă din introducere, patru capitole, concluzii generale și recomandări; bibliografie din 233 surse, 5 anexe, 120 pagini text de bază, 24 tabele, 33 figuri. Rezultatele obținute sunt publicate în 20 lucrări științifice.

Cuvinte cheie: extracte *Rheum rhaponticum*, activitatea biologică, *Cucurbitaceae*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Fusarium*, *Aphididae*, *Sitotroga cerealella*.

Domeniul de studiu: Științe biologice.

Scopul lucrării: Determinarea compoziției substanțelor biologice active în extractele din plantele de *Rheum rhaponticum* și evaluarea posibilităților de utilizare a acestora în calitate de mijloace de protecție a plantelor.

Obiectivele cercetării: Elaborarea tehnologiei de cultivare a plantelor din genul *Rheum*; determinarea compoziției principalelor substanțe biologice active în extractele din rubarbă și procedeul de extragere a lor; evaluarea eficacității aplicării extractelor din rubarbă pentru protecția culturilor agricole în combaterea dăunătorilor și bolilor.

Noutatea și originalitatea științifică: Au fost depistate zonele de localizare și compoziția substanțelor biologice active (SBA) a rubarbei; elaborată metoda optimă de extragere; determinate tipurile activității biologice a extractelor. A fost optimizată tehnologia de cultivare a rubarbei.

Problema științifică importantă soluționată constă în *fundamentarea științifică* a capacității extractelor obținute din *R. rhaponticum* pentru a prezenta tipuri de activitate fungicidă, stimulatorie, antifeedantă și insecticidă, *care a condus* la dezvoltarea metodelor de utilizare a extractelor în stimularea germinării semințelor, pentru controlul unor agenții patogeni și dăunători și *a permis* determinarea eficacității biologice ca mijloc de protecție a plantelor.

Semnificația teoretică: Au fost separate principalele substanțe biologice active din extractul de rubarbă și determinat tipul acțiunii acestora asupra unor fitopatogeni și dăunători.

Valoarea practică: Au fost determinate metodele de obținere și utilizare a extractelor din rubarbă pentru protecția plantelor în combaterea a unor patogeni și dăunători; a fost optimizată tehnologia de cultivare a rubarbei în condițiile Republicii Moldova.

Implementarea rezultatelor științifice: Rezultatele științifice obținute au constituit baza cursului de biotehnologie la Universitatea de Stat din Moldova. Formele preparative obținute au fost implementate în gospodăria țărănească „Vartic” pe o suprafață de 2000 m² tern protejat, în seră, cu castraveți „Artist F1”, pentru protecția ecologică a castraveților împotriva fâinării.

ANNOTATION

Gladcaia Alla “The biological argumentation of the application of genus *Rheum* plant’s extracts as a means of plant protection”. Thesis for the degree of Doctor in Biological Sciences, Chisinau, 2019.

Thesis consists of the introduction, four chapters, main conclusions and recommendations, bibliography of 233 sources, 120 pages of the main text, 24 tables, 33 figures and 5 supplements. The investigation results were published in 20 scientific papers.

Key words: *Rheum rhaponticum* extracts, biologic activity, *Cucurbitaceae*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Fusarium*, *Aphididae*, *Sitotroga cerealella*.

Domain of research: Biological sciences.

Aim of research: To determine the composition of bioactive substances in *R. rhaponticum* plants extracts and to evaluate the possibility of using these extracts as plant protection products.

Objectives: Optimization of the genus *Rheum* plants cultivation; determination of the composition and location of the main rhubarb BAS and the way of extraction; assessment of the effectiveness of rhubarb extracts in the protection of crops against pests and diseases.

Scientific novelty and originality. The localization zones and the composition of the rhubarb BAS have been identified, the optimum method for their extraction has been developed. The types of biological activity of *R. rhaponticum* extracts on test objects from different taxonomic groups have been determined. Microbiological preparations were used to optimize the technology of the genus *Rheum* plants growing in the Republic of Moldova.

The important scientific problem solved in the respective domain consists in the *scientific substantiation* of the *R. rhaponticum* fungicidal, stimulating, anti-fatigue, insecticidal types of activity, which *led to* the development of methods for using extracts to stimulate seed germination, to control phytopathogens and pests and *allowed* to determine their biological effectiveness in plant protection.

The theoretical significance. The main active BAS of *Rheum* extracts have been identified and the type of their action on phytopathogens and pests of agricultural plants was determined.

The practical significance of the work. Methods for obtaining and using of rhubarb extracts to protect agricultural plants from pathogens and pests have been determined; the technology of rhubarb cultivation in the Republic of Moldova conditions have been optimized.

Implementation of the scientific results. The obtained results were used for the biotechnology course elaboration at the State University of the Republic of Moldova. The extracts obtained were tested in the premises GT “Vartic” on greenhouse cucumber “Artist F1” plantation, 2000 m² square, for environmental protection of powdery mildew.

ГЛАДКАЯ АЛЛА

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЭКСТРАКТОВ ИЗ
РАСТЕНИЙ РОДА *RHEUM* В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ**

411.09 - ЗАЩИТА РАСТЕНИЙ

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Aprobat spre tipar: 26.09.2019

Formatul hârtiei A4

Hârtie ofset. Tipar digital

Tiraj 50 ex.

Coli de tipar: 2,0

Comanda nr. 59

Tipografia PRINT-CARO

str. Columna, 170

tel.: 022-85-33-86