

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

Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук

Научный руководитель

**ВОЛОЩУК Л. Ф., доктор хабилитат
биологических наук,
профессор исследователь,**

Научный консультант

**НАСТАС Т. Н., доктор хабилитат
биологических наук,
конференциар исследователь,**

Автор

ГЛАДКАЯ Алла

Кишинэу, 2019

INSTITUTUL DE GENETICĂ, FIZIOLOGIE ȘI PROTECȚIE A PLANTELOR

Cu titlu de manuscris

C.Z.U.: 635.48:632.937:581.135

GLADCAIA ALLA

**ARGUMENTAREA BIOLOGICĂ A APLICĂRII EXTRACTELOR DIN PLANTELE
GENULUI *RHEUM* CA MIJLOC DE PROTECȚIE A PLANTELOR**

411.09 - Protecția plantelor

Teză de doctor în științe biologice

Conducător științific

VOLOSCIUC Leonid,
doctor habilitat în științe biologice,
profesor cercetator,

Consultant științific

NASTAS Tudor,
doctor habilitat în științe biologice,
conferețial cercetator,

Autor

GLADCAIA Alla

Chișinău, 2019

© GLADCAIA ALLA, 2019

Оглавление

Аннотация (русский, румынский и английский)	6
Список таблиц	9
Список рисунков	11
Список сокращений	14
Введение	15
1. Растения рода <i>Rheum</i> – важнейший источник функциональных биологически активных веществ	
1.1. Роль вторичных метаболитов в жизнедеятельности растений	22
1.2. Ботаническая характеристика растений рода <i>Rheum</i>	22
1.3. Биохимическая характеристика активных веществ растений рода <i>Rheum</i>	26
1.4. Роль биоактивных веществ экстрактов ревеня в защите растений	31
1.5. Биологически активные вещества ревеня в качестве индукторов иммунитета растений	36
1.6. Хозяйственные преимущества выращивания и использования ревеня в условиях экологического земледелия	40
2. Материалы и методы исследований	
2.1. Место и условия проведения опытов	47
2.2. Материалы исследований	48
2.3. Методы исследований	53
3. Экологические особенности выращивания растений рода <i>Rheum</i> в условиях республики Молдова, определение локализации и состава биоактивных веществ <i>Rheum rhaponticum</i> L. Способы получения экстрактов и определение их инсектицидной активности	
3.1. Экологические особенности выращивания растений рода <i>Rheum</i> в условиях Республики Молдова, болезни и вредители	71
3.2. Способы оптимизации технологии выращивания растений рода <i>Rheum</i>	75
3.3. Определение локализации и состава содержания биоактивных веществ в растениях <i>Rheum rhaponticum</i> L.	80
3.4. Разработка способов получения экстрактов на основе растительного сырья <i>Rheum rhaponticum</i> L.	82
3.5. Определение биологической эффективности экстрактов из <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля вредителей семейства <i>Aphididae</i> и <i>Sitotroga cerealella</i> Oliv.	88
3.6. Выводы к главе III	92

4. Оценка эффективности растительных экстрактов на основе <i>Rheum rhaponticum</i> L. для биологического контроля болезней сельскохозяйственных культур	
4.1. Определение биологической эффективности экстрактов на основе корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля фитопатогенных агентов семян сельскохозяйственных культур.....	93
4.2. Определение влияния предпосевной обработки семян однодольных и двудольных растений экстрактами корня и листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L. на всхожесть и биометрические показатели проростков.....	95
4.3. Определение биологической эффективности композиций на основе экстрактов из <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля мучнистой росы	101
4.3. Определение биологической эффективности композиций на основе экстрактов из <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля мучнистой росы	101
4.5. Выводы к главе 4.....	116
5. Общие выводы и рекомендации.....	118
6. Библиография.....	121
Приложения.....	142
Приложение 1. Биологическая эффективность экстрактов растения <i>Rheum rhaponticum</i> L. в контроле тли (<i>Aphididae</i>) и отрождении зерновой моли (<i>Sitotroga cerealella</i> Oliv.)	143
Приложение 2. Фунгицидная активность экстракта корня ревеня в подавлении фитопатогенов рода <i>Fusarium</i>	144
Приложение 3. Влияние экстрактов из корня и листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L. на всхожесть семян и размеры проростков кукурузы сахарной и сои.....	145
Приложение 4. Симптомы заболевания тыквенных культур мучнистой росой и передозировки экстракта корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. при обработке листьев.....	149
Приложение 5. Акты внедрения результатов работы.....	150
Декларация об ответственности.....	153
Автобиография.....	154

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 *Rheum 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 *Rheum 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 biologic 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 biologic 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 biologic 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 *Rheum rhaponticum* pentru a prezenta tipuri de activitate fungicidă, stimulative, 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 biologic 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 *Rheum 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 *Rheum 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 *Rheum 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.

СПИСОК ТАБЛИЦ

1. Таблица 1.1. Основные гидроксисти́лбены в корнях <i>Rheum rhaponticum</i> и <i>Polygonum cuspidatum</i> [92]	29
2. Таблица 1.2. Распределение стран мира с органическим сектором сельского хозяйства по континентам, 2014 [2]	41
3. Таблица 1.3. Основные показатели современного состояния органического земледелия на 2014 год [2]	42
4. Таблица 1.4. Количество вредных организмов и их воздействие на продуктивность сельскохозяйственных культур.....	43
5. Таблица 1.5. Биохимия и применение различных частей растения ревеня.....	45
6. Таблица 2.1. Сравнительный анализ подходов к стандартизации корней ревеня, используемых в мировой фармацевтической практике [200].....	54
7. Таблица 3.1. Влияние предпосевной обработки семян биопрепаратом Trichodermin-SC на всхожесть и биометрические параметры проростков <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	77
8. Таблица 3.2. Влияние предпосевной обработки семян <i>Rheum palmatum</i> Maxim. на всхожесть и биометрические показатели проростков.....	78
9. Таблица 3.3. Результаты количественного определения суммы флавоноидов и фенолов.....	87
10. Таблица 3.4. Характеристика свойств основных действующих биоактивных веществ в составе растительного сырья из листьев и корней <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	87
11. Таблица 4.1. Определение диаметров зон подавления роста патогенов рода <i>Fusarium</i> экстрактом из корня (R) <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	94
12. Таблица 4.2. Влияние экстрактов из корня (R) и листьев (L) <i>Rheum rhaponticum</i> L. на всхожесть семян и размеры проростков кукурузы сахарной и сои в лабораторных условиях	96
13. Таблица 4.3. Влияние предпосевной обработки семян кукурузы сахарной и сои экстрактами из корня (R) и листьев (L) <i>Rheum rhaponticum</i> L. на показатели всхожести и размеры проростков	97
14. Таблица 4.4. Биологическая эффективность предпосевной обработки семян кукурузы и сои экстрактами из корня (R) и листьев (L) <i>Rheum rhaponticum</i> L. на искусственном инфекционном фоне	98
15. Таблица 4.5. Влияние экстракта корня (R) <i>Rheum rhaponticum</i> L. в сочетании с микроэлементами на всхожесть семян и размеры	

проростков кукурузы	100
16. Таблица 4.6. Биологическая эффективность экстракта корня (R) <i>Rheum</i> в защите рассады <i>Cucumis melo</i> L. и <i>Cucurbita pepo</i> L. от мучнистой росы	103
17. Таблица 4.7. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде кабачка (<i>Cucurbita pepo</i> L.)	107
18. Таблица 4.8. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде огурца (<i>Cucumis sativus</i> L.)	108
19. Таблица 4.9. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде дыни (<i>Cucumis melo</i> L.).....	109
20. Таблица 4.10. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде тыквы (<i>Cucurbita pepo</i> L.).....	110
21. Таблица 4.11. Средние значения биологической эффективности композиций на основе экстракта корня ревеня (R) в сочетании с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде культур <i>Cucurbitaceae</i>	110
22. Таблица 4.12. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L. в защите от мучнистой росы на рассаде <i>Cucumis sativus</i> L. (за 4 часа дозаражения).....	112
23. Таблица 4.13. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L. в защите от мучнистой росы на рассаде <i>Cucumis sativus</i> L. (за 72 часа до заражения).....	113
24. Таблица 4.14. Биологическая эффективность обработки рассады <i>Cucumis sativus</i> L. экстрактами корня (R) и листьев (L) ревеня в контроле мучнистой росы.....	114

СПИСОК РИСУНКОВ

1. Рисунок 1.1. Основные виды ревеня, упомянутые в диссертационной работе.....28
2. Рисунок 1.2. Динамика площадей, занятых под производство органической сельскохозяйственной продукции в мире, 1999 – 2014 гг [2].....41
3. Рисунок 1.3. Динамика сельскохозяйственных площадей, занятых под органическим производством сельскохозяйственной продукции в Европе за период 1985 – 2014 гг [2].....42
4. Рисунок 2.1. Степень поражения корневыми гнилями сои (а) и кукурузы (б).....61
5. Рисунок 2.2. Интенсивность развития болезни на листьях: 0) признаки поражения отсутствуют; 1) поражено до 10% листовой поверхности; 2) до 25% листовой поверхности; 3) до 50% листовой поверхности; 4) свыше 50% листовой поверхности.....65
6. Рисунок 2.3. Вредители сельскохозяйственных культур. а – бобовая тля (*Aphis fabae* Scop.), б – зеленая яблонная тля (*Aphis pomi* Degeer.), в – злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rondani.)68
7. Рисунок 3.1. Фазы развития и размножения ревеня различных видов на опытных участках института: а) рассада *Rheum palmatum* Maxim., б) плантация *Rheum compactum* L., в) соцветия *Rheum rhaponticum* L., г) соплодия *Rheum rhaponticum* L.....70
8. Рисунок 3.2. Вредители и болезни ревеня на опытных участках института: а) имаго олёнки мохнатой (*Epicometis hirta* Poda., сем. *Scarabaeidae*), б) личинки хруща майского (род *Melolontha*, сем. *Scarabaeidae*), в) ревеневый клоп (*Coreus marginatus* L. сем. *Coreidae*), г) аскохитоз (*Ascochyta rhei* Ell. et Ev., сем. *Didymellaceae*) 74
9. Рисунок 3.3. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. микробиологическими суспензиями на всхожесть.....76
10. Рисунок 3.4. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. микробиологическими суспензиями на размер проростков...76
11. Рисунок 3.5. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. биопрепаратом Gliocladin-SC на всхожесть в лабораторных условиях: а) прорастающие семена в чашке Петри; б) всхожесть (%) обработанных семян ревеня, высаженных в паллеты78
12. Рисунок 3.6. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. биопрепаратом Gliocladin-SC на всхожесть в полевых условиях:

а) опытный участок ревеня, б) всхожесть (%) обработанных семян, посеянных в открытый грунт	79
13. Рисунок 3.7. Поперечный срез пятилетнего корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. с годовыми кольцами: а) общий вид, б) микроскопическое строение (x 20).	80
14. Рисунок 3.8. Фрагмент корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. (x 100), окрашенный раствором Люголя.....	81
15. Рисунок 3.9. Фрагмент корня <i>Rheum rhaponticum</i> L. (x 100), окрашенный раствором щелочи. Особенности локализации антраценпроизводных.....	81
16. Рисунок 3.10. а) электрическая лабораторная мельница (Тип МРП-1, асинхронный двигатель); б) световой микроскоп.....	82
17. Рисунок 3.11. Технологическая схема получения экстракта из корней <i>Rheum rhaponticum</i> L.	83
18. Рисунок 3.12. а) экстракция на термомешалке; б) фильтрация экстракта; в) примеры различной концентрации экстракта.....	84
19. Рисунок 3.13. а) Прибор для проведения жидкостной хроматографии (ВЭЖХ): Agilent 1100; г) Спектрофотометр HALO VIS 10.....	85
20. Рисунок 3.14. ВЭЖХ-хроматограмма спиртового извлечения корня ревеня.....	85
21. Рисунок 3.15. Графики зависимости оптической плотности экстрактов ревеня от концентрации фенолов (а) и флавоноидов (б).....	86
22. Рисунок 3.16. Влияние обработки экстрактами из растений <i>Rheum rhaponticum</i> L. для контроля тли: а) состояние тли до обработки экстрактами; б) тля, погибшая после обработки.....	88
23. Рисунок 3.17. Биологическая эффективность (%) экстрактов <i>Rheum rhaponticum</i> L. (R – корня; L – листьев; F – соцветий) в контроле различных видов тли.....	89
24. Рисунок 3.18. Средняя биологическая эффективность экстрактов <i>Rheum</i> <i>rhaponticum</i> L. (R – корня; L – листьев; F – соцветий) в контроле вредителей семейства <i>Aphididae</i>	90
25. Рисунок 3.19. Опыт по определению влияния экстрактов корня и листьев <i>Rheum</i> на контроль вредителя запасов: а) зерновая моль (имаго), б) чашки Петри с обработанным зерном в термостате	91
26. Рисунок 3.20. Динамика отрождения имаго <i>Sitotroga cerealella</i> Oliv. при обработке экстрактами корня (R) и листьев (L) <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	91
27. Рисунок 4.1. Образование стерильных зон подавления роста патогенов экстрактом корня <i>Rheum rhaponticum</i> L.: а – <i>Fusarium moniliforme</i> Sheldon.,	

б – <i>Fusarium graminearum</i> Schw., в – <i>Fusarium sporotrichiella</i> Bil.....	94
28. Рисунок 4.2. Поражение растений мучнистой росой: а) контрольные растения; б) мицелий на листьях; в) растения, обработанные экстрактами.....	102
29. Рисунок 4.3. Средние значения биологической эффективности экстракта корня ревеня на рассаде <i>Cucumis melo</i> L. и <i>Cucurbita pepo</i> L. в контроле мучнистой росы.....	103
30. Рисунок 4.4. Индекс хлорофилла в листьях рассады дыни после обработки препаратами из корня ревеня (R).....	105
31. Рисунок 4.5. Влияние обработки экстрактами корня и листьев ревеня на состояние рассады огурца в закрытом грунте.....	111
32. Рисунок 4.6. Биологические свойства экстракта листьев <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	115
33. Рисунок 4.7. Биологические свойства экстракта корня <i>Rheum rhaponticum</i> L.....	115

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БАВ (BAS) – биологически активные вещества

ВЭЖХ (HPLC) – метод высокопроизводительной жидкостной хроматографии

УФ – ультрафиолетовое излучение

R (root) – экстракт корня *Rheum rhaponticum* L.

L (leave) – экстракт листьев *Rheum rhaponticum* L.

F (flower) – экстракт соцветий *Rheum rhaponticum* L.

SAR – системная приобретенная устойчивость (systemic acquired resistance)

ISR – индуцированная системная устойчивость (induced systemic resistance)

э. к. - эмульгируемые концентраты

ЕС – Европейский Союз

США – Соединенные Штаты Америки

ГМО – генно-модифицированные организмы

ООН – Организация Объединённых Наций

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, выделить свою продукцию среди массовой. По данным ВНИИ Агроэкоинформ, при переходе на технологии органического сельского хозяйства происходит повышение рентабельности сельхозпроизводства не менее, чем на 30%. ООН проводила исследования, согласно которым при реорганизации хозяйств с внедрением методов органического производства 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. [1-2]. В настоящее время более 90% экологически чистых продуктов питания потребляют страны ЕС и США. Однако в ЕС дефицит сельскохозяйственных земель, а в США экофермерам трудно соревноваться с фермерами, использующими ГМО-культуры. Таким образом, Молдова потенциально способна занять определенное место в производстве и экспорте органической сельхозпродукции на рынки США и ЕС.

В целях производства органической продукции, возникла очевидная необходимость поиска новых, альтернативных, экологически чистых методов борьбы с болезнями и вредителями, что привело к признанию продуктов растительного происхождения (растительных экстрактов) весьма эффективными, социально приемлемыми, биоразлагаемыми и ориентированными на конкретные вредные организмы 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, которые являются отходами хозяйственного производства черешков, 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.

Синтез фенольных соединений является хемотаксономическим признаком растений семейства *Polygonaceae*, в частности рода *Rheum*, биоактивные вещества которого

досконально изучены, ввиду его активного использования в медицине и кулинарии в течение последних трех тысяч лет в различных странах [3-9]. Проведенные междисциплинарные исследования механизма действия фенольных соединений в процессе жизнедеятельности растений позволяют раскрыть возможные способы создания средств защиты на их основе. Научные международные исследования свойств 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 [10-11]. В Молдове, на данный момент, не зарегистрировано ни одного препарата для защиты растений на основе экстракта корня, листьев или соцветий ревеня и преимущества использования биоактивных веществ этого растения являются слабоизученными.

На основании всего вышеизложенного, была намечена **цель работы**:

Определение состава биоактивных веществ в экстрактах из растений *Rheum rhaponticum* L. и оценка 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* и выбор оптимального способа их экстрагирования;
- оценка эффективности предпосевной обработки экстрактом корня и листьев *Rheum rhaponticum* в контроле фитопатогенов семян сельскохозяйственных растений рода *Fusarium*;
- определение биологической эффективности экстрактов из *Rheum rhaponticum* для контроля фитопатогенов мучнистой росы сельскохозяйственных растений из семейства *Cucurbitaceae*;
- оценка влияния экстрактов из растений *Rheum rhaponticum* 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.

Методы научных исследований

В целях обнаружения антраценпроизводных в растении *R. rhaponticum* были использованы методы микроскопирования в сочетании с качественными реакциями [12]. Для качественного и количественного анализа биоактивных веществ экстрактов были использованы методы ВЭЖХ и спектрофотометрии в соответствии с рекомендациями фармакопеи Европейского Союза и Российской Федерации [13-16]. В целях получения расширенного спектра биоактивных веществ была использована водно-этанольная экстракция на водяной бане, с последующей мацерацией [12, 17].

Определение влияния экстракта корня на контроль патогенов семян (*Fusarium sporotrichiella* Bilai., *Fusarium moniliforme* Sheld., *Fusarium graminearum* Schwabe.) проведено методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков, основанном на способности БАВ диффундировать в агаровых средах с образованием зон отсутствия роста между патогеном и диском, пропитанным БАВ. Определение оптимальных концентраций экстрактов из корня и листьев *R. rhaponticum* с фунгицидными и стимулирующими свойствами, в качестве агента для предпосевной обработки семян сои и кукурузы в контроле фитопатогенов рода *Fusarium* Link ex.Fr., было проведено в лабораторных и мелкоделяночных опытах в соответствии с общепринятыми методиками и межгосударственными стандартами [18-20].

Для определения влияния предпосевной обработки семян сои (*Glycine max* L), кукурузы сахарной (*Zea mays* L) 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 в материалах исследований фирмы Marrone Bio Innovations Incorporation [21-23]. Для определения биологической эффективности экстрактов ревеня для контроля мучнистой росы (*Sphaerotheca fuliginea* Poll. f. *cucurbitae* Jacz.) на культурах *Cucurbitaceae*, был применен метод мелкокапельного опрыскивания растений рабочей жидкостью, содержащей различные концентрации экстрактов корня и листьев. Интенсивность развития болезни и биологическую эффективность экстрактов определяли по стандартным методикам [24-25]. При помощи прибора CM 1000 Chlorophyll Meter, был изучен индекс содержания хлорофилла в листьях растений, обработанных экстрактами, с целью подбора оптимальной концентрации, стимулирующей рост и иммунитет растений. 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 [26-27]. Для построения графических материалов использовали пакет программ Microsoft Office Excel. Математическая обработка и оценка достоверности полученных научных данных проведена с использованием платформы ABC Pascal [28-30].

Основные тезисы, выдвигаемые на защиту

1. Оценка особенностей и оптимизация технологии выращивания растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова и выявление их основных болезней и вредителей;
2. Выявление зон локализации БАВ в клетках корня ревеня, определение химического состава БАВ, разработка методических приемов получения экстрактов;
3. Оценка биологической эффективности экстрактов из корня, листьев и соцветий ревеня для контроля болезней, и вредителей сельскохозяйственных культур – фитопатогенов семян рода *Fusarium*, мучнистой росы тыквенных культур (*Sphaerotheca fuliginea*), настоящей тли (сем. *Aphididae*), зерновой моли (*Sitotroga cerealella* Oliv);
4. Выявление биологических свойств экстрактов ревеня в качестве стимуляторов всхожести семян и иммунитета растений.

Краткое изложение диссертации

Во введении обоснована актуальность проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, решенная научная проблема, показаны научная новизна, теоретическая и практическая ценность результатов работы. Были сформулированы основные тезисы, выдвигаемые на защиту, представлена апробация материалов исследований и внедрение полученных результатов.

В главе 1 «Растения рода *Rheum* - важнейший источник функциональных биологически активных веществ» описана история и современные тенденции в области изучения и применения биологически активных веществ растений рода *Rheum* в разных странах в различное время. На основе исследования ботанических особенностей рода *Rheum* мы получили возможность выбрать наиболее неприхотливый, рентабельный и продуктивный вид ревеня для исследований. Были описаны и определены те виды ревеня, которые смогут расширить видовое разнообразие в будущих исследованиях. Особое внимание уделено биохимической характеристике биоактивных веществ всех частей растения рода *Rheum*, и, особенно, новейшим исследованиям вида *R. rhaponticum*, который стал источником растительного сырья в наших опытах. Представлена характеристика

основных действующих биоактивных веществ в составе сырья из подземной и надземной частей *R. rhaponticum* – эмодин, кверцетин, щавелевая кислота. Описана биологическая роль экстрактов *R. rhaponticum* в защите растений и основные препараты на их основе, применяемые в биоконтроле фитопатогенов в мире и в Республике Молдова. Рассмотрены преимущества использования безотходного цикла переработки ревеня в условиях экологического земледелия.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» описаны предмет и объекты исследований, материалы и методы, применявшиеся для решения задач. В качестве предмета исследований были использованы биоактивные вещества экстрактов из растений *R. rhaponticum*. Изучение свойств экстрактов проводилось на широком круге тест-объектов из разных таксономических групп и на разных фазах и стадиях их развития: 1) на семенах сои и кукурузы изучали фунгицидную активность в отношении микотоксичных фитопатогенов рода *Fusarium* класс *Deuteromycetes*, царство *Mycota*; 2) на рассаде и взрослых растениях тыквенных культур изучали защитные свойства экстрактов от мучнистой росы *Sphaerotheca fuliginea* Poll.; класс *Ascomycetes*, царство *Mycota*; 3) на культурах яблони, злаковых и щавеля изучали инсектицидные и детеррентные свойства экстрактов ревеня в отношении вредителей семейства *Aphididae*, класс *Insecta*; 4) на зернах ячменя тестировали экстракты для подавления численности зерновой моли *Sitotroga cerealella* Oliv; вредителя запасов из отряда *Lepidoptera*, сем. *Gelechiidae*, класс *Insecta*; 5) на семенах сои, кукурузы изучали влияние предпосевной обработки экстрактами ревеня на всхожесть.

Материалами исследований служили семена, рассада и посадки растений ревеня, а также, сельскохозяйственные растения, пораженные болезнями и вредителями. Использованы следующие методы: выделения и идентификации биоактивных веществ; анатомо-морфологические исследования корней ревеня с использованием светового микроскопа и гистохимических реакций; определение количества и качества действующих веществ в экстрактах ревеня (методы ВЭЖХ и спектрофотометрии); определение фунгицидных свойств экстракта (метод диффузии в агар, определение баллов поражения корней и листьев растений); определение фитостимулирующего эффекта (проращивание семян; измерение индекса хлорофилла в листьях при помощи прибора CM 1000 Chlorophyll Meter); определение иммуностимулирующих свойств (искусственное заражение рассады тыквенных культур фитопатогеном *S. fuliginea* через 4 и 72 часа после обработки экстрактами), определение антифидантных и инсектицидных свойств (учет смертности тли или отрождения имаго зерновой моли после обработки субстрата экстрактами ревеня). Для

построения графических материалов использовали пакет программ Microsoft Office Excel. Математическая обработка и оценка достоверности полученных научных данных проведена с использованием платформы ABC Pascal.

В главе 3 «Экологические особенности выращивания растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова, определение локализации и состава биоактивных веществ *Rheum rhaponticum* L. Способы получения экстрактов и определение их инсектицидной активности» приведены результаты изучения особенностей агротехники выращивания и размножения, болезней и вредителей растений рода *Rheum* в условиях Республики Молдова. Определены условия сбора и хранения растительного материала. Представлен расширенный спектр видов ревеня с высоким содержанием биоактивных веществ, оптимизирована технология выращивания и размножения видов рода *Rheum* с помощью использования микробиологических препаратов, зарегистрированных в Республике Молдова. С помощью гистохимической реакции с щелочными реагентами выявлены особенности локализации антраценпроизводных в основной паренхиме вторичной коры *R. rhaponticum* и паренхиме сердцевинных лучей. Методом ВЭЖХ было установлено наличие в экстракте корня *R. rhaponticum* действующего антраценпроизводного вещества (эмодин). Методом спектрофотометрии установлено количество флавоноидов и фенолов в корне и листьях ревеня. После определения химических свойств биоактивных веществ растения, приведены разработки оптимальных способов экстракции биоактивных веществ (эмодин, кверцетин, щавелевая кислота). Установлено инсектицидное и антифидантное действие экстрактов корня, листьев и соцветий ревеня в отношении вредителей *Aphididae* и вредителя запасов *S. cerealella*.

В главе 4 «Оценка эффективности растительных экстрактов на основе *Rheum rhaponticum* L. для биологического контроля болезней сельскохозяйственных культур» приведены результаты определения влияния предпосевной обработки семян сои и кукурузы экстрактами ревеня на контроль корневых гнилей и увеличение показателей прорастания, обработки рассады тыквенных культур против мучнистой росы, зерен ячменя против зерновой моли, листьев сельскохозяйственных культур против тли. Проведены исследования биологической эффективности экстрактов в условиях лаборатории и закрытого грунта. Установлено фунгицидное действие экстракта корня ревеня в отношении фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и *Sphaerotheca*, Доказано стимулирующее действие экстрактов ревеня на показатели прорастания семян и иммунитет рассады тыквенных культур. Основное содержание раздела состоит в биологической аргументации использования экстрактов из *R. rhaponticum* в качестве самостоятельных средств защиты

растений и композиций на их основе. Установлено, что композиция из экстрактов корня и листьев ревеня обладает комбинированным действием (фунгицидным и стимулирующим) и является наиболее перспективной и рентабельной для подавления корневых гилей сои и кукурузы рода *Fusarium* и защиты овощных культур *Cucurbitacea* от мучнистой росы в условиях закрытого грунта.

Выводы и рекомендации представлены на основании полученных результатов. Обобщены основные приемы и способы оптимизации агротехники выращивания ревеня, состава действующих веществ экстрактов ревеня, способов экстракции. Описаны типы биологической активности экстрактов ревеня и составы композиций на основе экстрактов для защиты растений от болезней и вредителей. Обосновано использование экстрактов ревеня в интегрированной системе защиты растений благодаря их фунгицидной, стимулирующей, антифидантной и инсектицидной активности. Даны рекомендации по использованию экстрактов ревеня и их композиций в качестве биологизированных средств защиты растений в экологическом земледелии.

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

Накопление болезней и вредителей в современных сельскохозяйственных биоценозах, построенных на основе монокультуры, создает необходимость неограниченного применения пестицидов, что, свою очередь, порождает проблему резистентности вредных объектов и способствует значительному увеличению доз химических препаратов. Такие интенсивные методы земледелия стали причиной обострения экологических проблем и увеличения пестицидного пресса на выращиваемые культуры и окружающую среду. Очевидна необходимость альтернативных способов ведения сельскохозяйственного производства вообще и защиты растений, в частности. Оригинальную модель интенсификации сельского хозяйства по пути «устойчивого развития» предложил ученый А. А. Жученко [31-33]. На этой основе набирает силу новая стратегия – конструирование экологически устойчивых агроэкосистем с задачей фитосанитарной оптимизации агробиоценозов [34-37]. Основным направлением современной защиты растений стало не тотальное уничтожение, а снижение развития болезней и вредителей ниже экономического порога вредоносности при помощи интегрированных методов. Именно этим объясняется вновь возросший интерес к поиску новых экологически безопасных средств защиты растений, и особенно, к вторичным метаболитам растительного происхождения.

1.1. Роль вторичных метаболитов в жизнедеятельности растений

Растения, как организмы лишённые мобильности, образуют огромное разнообразие фенольных соединений в качестве альтернативной стратегии реагирования на экзогенные стрессовые ситуации [38]. В первую очередь это защитные вещества против различного рода патогенных микроорганизмов, а также против насекомых и травоядных животных. Несмотря на то, что не все биоактивные вещества вовлечены в первичные метаболические процессы и относятся к «веществам вторичного происхождения», они являются жизненно важными для растений: определяют свойства древесины и коры, обеспечивают различную окраску лепестков цветков и других частей растения, участвуют в процессах роста, морфогенеза, дыхания и фотосинтеза, являются резервными и сигнальными веществами [39-41]. На основе растительных фенолов могут быть созданы как препараты, характеризующиеся высокой избирательностью действия на целевые объекты, так и средства защиты растений, обладающие более широким спектром действия и сочетающие в себе несколько типов биологической активности (фунгицидной, иммуностимулирующей,

инсектицидной). Использование таких препаратов позволит снизить количество химических обработок, а значит, и остаточное количество пестицидов в сельскохозяйственной продукции, уменьшив тем самым загрязнение экосистем. В работах британских и российских ученых было доказано, что индуцируемая устойчивость позволяет растениям снизить энергетические затраты на защиту от патогенов и сохранить энергию для роста, развития и образования семян [42-43]. К веществам фенольной природы (которыми богаты экстракты корней ревеня) принято относить ароматические соединения, которые содержат бензольное ядро с одной или несколькими гидроксильными группами. В работах австралийских и французских исследователей в основу классификации природных фенолов положен биогенетический принцип, согласно которому группы располагают в порядке усложнения молекулярной структуры [44-45].

Механизм действия фенольных соединений в процессе жизнедеятельности растений позволяет использовать их в качестве средств защиты растений от фитопатогенов и вредителей. Например, экологи, физиологи, энтомологи и биохимики из Франции, Германии, Канады, Мексики доказали, что защитная функция фенольных соединений (эмодин и кверцетин, присутствующие в корнях и листьях ревеня) проявляется в качестве, так называемых, детеррентов (от лат. *deterreo* – отпугивать) или антифидантов (от *anti* – против и англ. *feed* – питание) – соединений, снижающих привлекательность и пищевую ценность растительных тканей для фитофагов. Увеличение содержания лигнанов, таннинов, пирокатехола и феруловой кислоты, наблюдаемое в немолодых листьях, делает их малосъедобными для личинок и взрослых насекомых. В этом контексте, интересен вопрос, касающийся того, как насекомые подбирают растения для питания и в качестве объектов для откладывания яиц. В разное время ученые Франции и Британии исследовали эти явления и пришли к выводу, что насекомые обладают набором хеморецепторов (вкусовые и обонятельные хеморецепторные системы), в основном на их антеннах и ротовых органах, что позволяет им различать широкий спектр химических соединений, часто в невероятно низких концентрациях, и кодировать эту информацию. Впоследствии эта информация обрабатывается функцией центров декодирования команды, локализованных в центральной нервной системе [46-47]. Биосинтез химических соединений в растительных тканях непосредственно не связан с их основными путями метаболизма, но не враждебен нормальному росту и развитию, и служит для уменьшения или уничтожения пищевой привлекательности растения, в котором они произведены [48-50].

Среди защитных функций фенольных соединений выделяют фотопротекторную роль. Исследователи из Оксфорда, Италии, Германии и Китая, используя современное оборудование установили, что эпидермальные клетки, пропуская видимый свет, поглощают до 95% УФ лучей благодаря повышенному содержанию фенольных соединений, в первую очередь, флавоноидов [51-53]. Считается, что флавоноиды, в частности, антоцианы, снижают риск фотоокислительных повреждений клеток за счет уменьшения количества активных форм кислорода [54]. Следует отметить, что тропические и высокогорные растения содержат большую долю флавоноидов, чем те, что растут в умеренной зоне [55-58]. Итальянские фитохимики установили, что, попадая в почву в качестве растительных остатков, различные типы растворимых фенолов растений (феруловая и галловая кислоты, флавоноиды, присутствующие и в корнях ревеня) могут подавлять прорастание спор и рост гиф сапрофитных грибов [59]. В процессе изучения биохимии метаболизма растений исследователями из Германии, России, Португалии, Италии, Индии была описана важная роль фенолов в качестве визуальных сигналов (пигменты в плодах и цветках) для животных, в привлечении опылителей к цветам, а позднее и для животных, поедающих плоды, и помогающих, тем самым, в распространении семян (антоцианы, флавононы, флавонолы, нафтохиноны и меланины) [60-64].

В результате изучения и анализа растительных фенолов в качестве регуляторов роста и развития растений, британские ученые установили их стимулирующее и/или ингибирующее воздействие на прорастание и покой семян. Эти вещества, найденные в семенных оболочках и зародышах, были идентифицированы как фенольные кислоты, гидроксикоричные кислоты и кумарины. Предполагается, что фенолы могут быть активными в качестве регуляторов прорастания, путем ингибирования переноса аминокислот и образования белков в семенах [65].

Исследования ученых из США и Пакистана в аллелопатии доказали значительную роль, зависящую от концентрации вторичных метаболитов, гормонов и некоторых других природных растительных соединений в регуляции роста растений [66-67]. Вторичные метаболиты (например, кверцетин, обнаруженный и в корнях и листьях ревеня) при низких концентрациях помогают вызвать прорастание, нарушая покой семян, способствуют росту корней за счет повышения доступности влаги и регулирования температуры, увеличивают минерализацию питательных веществ и улучшение их поглощения. Недавние исследования М. Н. Кандро (2015) аллелопатических культур показали, что водные экстракты сорго, подсолнечника, капусты, риса, пшеницы, ячменя содержат стимуляторы роста, способные улучшить развитие различных сельскохозяйственных культур и овощей при применении в

низких концентрациях [68]. Применение для предпосевной обработки семян экстрактов перечисленных растений, в зависимости от их концентрации, значительно влияют на процент прорастания, качество всходов, длину корешка и стебелька, свежий и сухой вес проростков. Таким образом, исследователи Пакистана, Индии и Нигерии опытным путем доказали, что низкие концентрации аллелопатических водных экстрактов, в качестве предпосевной обработки семян, могут улучшить параметры, которые в дальнейшем стимулируют скорость роста растений [69-71]. Экзогенное применение экстрактов растений (опрыскивание листьев) так же является эффективным методом для улучшения роста.

Антимикробные свойства флавонов, флавоноидов и танинов (присутствующих в корнях ревеня), обычно оцениваемые измерением ингибирования роста *in vitro* мицелия, хорошо документированы исследователями Аргентины и Индии для нескольких мицелиальных грибов, например, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, *Colletotrichum graminicola*, *Gloeophyllum trabeum*, *Trichoderma viride*, и *Penicillium* sp. В растениях умеренной зоны дубильные вещества и фенольные соединения сохраняют сердцевину стебля и корня растений (в том числе, ревеня) от патогена и ингибируют внеклеточный гидролиз от вторжения патогенных микроорганизмов, тем самым предотвращая их быстрое развитие в растении [72-73].

Практически все фенольные соединения играют важную защитную роль в реакциях организма на разных уровнях. Исследуя локальные и системные реакции растений на атаку патогенов, ученые США и Китая на различных примерах установили, что растительные клетки реагируют на механические повреждения или проникновения патогенов повышением активности фенилаланинаммиаклиаза, гидроксилазы транс-коричной кислоты, пероксидазы и других ферментов. Это сопровождается «вспышкой» новообразования фенольных соединений. Связываясь с не фенольными полимерами клеточных стенок, лигнин и оксикоричные кислоты способствуют их упрочнению и, таким образом, препятствуют проникновению патогенов, а также неконтролируемой потере воды. Следует отметить, что усиление процессов лигнификации является одной из стратегий метаболической адаптации к действию стресс-факторов разной природы [74-76]. Активация лигнинов в клеточных стенках и увеличение активности и транскрипции пероксидазы, по утверждению ученого из Академии Наук США, Бишоп (2000) происходит, когда при стрессе у растений проявляются признаки инфекции. Автор указывает, что активность пероксидазы широко связана с полимеризацией фенольных соединений, осаждением лигнина (обнаруженного, например, в корнях ревеня) и сшиванием фенолов с

белками клеточной стенки. Как только лигнин полимеризуется, он образует ковалентные связи с углеводами и белками и делает клеточные стенки высоко устойчивыми к механическим и ферментативным разрушениям, действуя, как основная линия защиты от патогенных микроорганизмов, насекомых и травоядных животных [77]. Изучая два пути синтеза лигнина, югославский исследователь К. Радотти (1998) доказал, что лигнины-предшественники могут оказывать токсическое действие на возбудителей сами по себе или путем связывания со стенкой клетки грибного патогена, делая ее более жесткой и непроницаемой, препятствуя тем самым дальнейшему росту или поглощению воды и питательных веществ. Кроме того, было высказано предположение о том, что полимеризация лигнин-предшественников свободными радикалами в межклеточном пространстве может также привести к одревеснению патогенных структур: каждое из этих возможных событий предоставляет проверяемые гипотезы, и некоторые из этих механизмов были описаны в работах исследователей из Испании, Бельгии и США [78-82].

Рассмотрев свойства вторичных метаболитов растений, мы увидели перспективу в поиске растительного источника фенольных соединений. Итальянские исследователи С. Полластри и Таттини (2011) в журнале «Annals of Botany» опубликовали результаты своих масштабных исследований о том, что фенолы являются редкостью в бактериях, грибах и водорослях, а флавоноиды почти полностью отсутствуют. Мохообразные производят полифенолы, в том числе флавоноиды, но полный спектр полифенолов найден в сосудистых растениях [83].

1.2. Ботаническая характеристика растений рода *Rheum*

Отдел Покрытосеменные растения (*Magnoliophyta*), или Цветковые (*Angiospermae*), разделены академиком А.Л. Тахтаджяном на 2 класса: класс двудольных (*Magnoliopsida*), или двудольные (*Dicotyledones*), и класс однодольных растений. К классу двудольных, в свою очередь, относится подкласс Кариофиллиды (*Caryophyllidae*), порядок Гречишноцветные (*Polygonales*). К порядку Гречишноцветные относится единственное семейство Гречишные (*Polygonaceae*), к которому относится род *Rheum* [84].

Многолетние травянистые растения *R. rhaponticum* с длинными мощными корнями имеют прямостоячие стебли, высотой 150-200 см. Прикорневые листья очень крупные, длинночерешковые, цельные, пальчато-лопастные или зубчатые, иногда по краю волнистые; черешки цилиндрические или многогранные, при основании снабжённые крупными раструбами. Стебель заканчивается крупным метельчатым соцветием. Цветки мелкие, обоеполые или вследствие недоразвития – однополые. Околоцветник простой, шестилистный, после опыления увядает. Тычинок 9, в два круга, пестик один, с верхней

одногнёздной трёхгранной завязью. Плод – трёхгранный орешек, семя белковое, зародыш центральный.

В результате изучения состава фенольных соединений представителей 16 родов семейства *Polygonaceae*, исследователь из России Г. И. Высочина (2002) установила, что фенольные соединения являются ценными хемотаксономическими маркёрами семейства, и синтез этих разнообразных низкомолекулярных веществ является характерной особенностью метаболизма Гречишных. Виды рода *Rheum* однообразны по составу флавоноидов и более дифференцированы по антрахиноновым структурам. Обнаружение в ревене стильбенов, лигнинов и разнообразных антрахинонов (эмодин) при высоком их содержании подтверждает мнение ботаников о древности этого рода. В филогенетической схеме удалось также выделить признаки, характерные общему предку *Polygonaceae*: это флавоноловые гликозиды на основе кемпферола и кверцетина [85].

Полный обзор медицински значимых видов рода *Rheum* был представлен в журнале «International Journal of Advanced Research» исследовательской группой из Индии во главе с С. Рашид (2014). В ходе исследования видов *R. officinale* Baill, *R. undulatum* Linn, *R. palmatum* Linn, *R. ribes* Linn, *R. palaestinum* Feinbr, *R. emodi* Wall, *R. webbianum* Royle, авторы доказали, что род *Rheum* в целом является потенциальным источником множества вторичных метаболитов, таких как фенолы (эмодин, алоэ-эмодин, фисцион, хризофанол, реин, эмодин-гликозид, хризофанол-гликозид) и флавоноиды (кверцетин) [86].

Исходя из вышеизложенного, нами был выбран вид *Rheum rhaponticum* L, который дал начало всем овощным сортам. Республика Молдова входит в ареал его разведения. Известно, что большинство видов рода *Rheum* до настоящего времени употреблялись в пищу или использовались в медицинских целях, поэтому их биохимия хорошо изучена.

Медицинское применение ревеня было известно в Китае еще за 2700 лет до нашей эры. Первым европейцем, проникшим в страну Тангутию и описавшим сбор ревеня, был венецианский путешественник Марко Поло (XIII век). Позже его завезли в Древнюю Грецию, а затем в Персию. Благодаря арабским врачам ремень стал известен в Европе в средние века. Торговля ревенем Китая с Россией началась в конце XVII века. С 1736 г. через Кяхту привозили ремень, отправляемый дальше в Западную Европу. Русский врач Д. Гротер получил от бухарских купцов семена лекарственного ревеня и переслал их знаменитому шведскому ботанику К. Линнею, который впервые дал выращенному из этих семян растению, ботаническое название и описание в первом издании «Genera plantarum» в 1737 г. В 1871 году семена тангутского ревеня впервые были доставлены в Петербургский ботанический сад знаменитым русским путешественником Пржевальским, собравшим эти

семена в китайской провинции Гань-Су. В наши дни ревеня культивируется на плантациях лекарственных, декоративных и овощных растений во всем мире, и в частности, в Молдове и соседних странах – России, Украине, Белоруссии, Румынии. Экономически значимые виды ревеня делятся на 3 основные группы: *R. emodi* Wall. ex Meissn. (Гималаи, Индия); *R. palmatum* var. *tanguticum* Maxim. (Южный и Западный Китай); *R. rhaponticum* L. (Европа). *R. palmatum* и *R. emodi* являются лекарственными видами и используются в традиционной и современной медицине. *R. rhaponticum* L., который мы использовали в своих экспериментах, дал начало овощным сортам (Рисунок 1.1).



а - *Rheum palmatum* var. *tanguticum* Maxim. (Southern and Western China) [87]



б - *Rheum moorcroftianum* Royle = *Rheum emodi* Wall. ex Meissn. (Himalayas, India) [88]



в - *Rheum rhaponticum* L. (Europe)



г - *Rheum altaicum* L. = *Rheum compactum* L. [85]

Рис. 1.1. Основные виды ревеня, упомянутые в диссертационной работе

1.3. Биохимическая характеристика активных веществ растений рода *Rheum*

В связи с тем, что ревеня активно используется в разных культурах в течение нескольких тысяч лет, его химический состав был изучен тщательно и подробно. Производные антрацена (хризофановая кислота, алоэ-эмодин, эмодин, фисцион, реин, глюкоэмодин, глюкоалоэ-эмодин, глюкореин, реохризин и хризофанеин) из корней *R. palmatum* L. var. *tanguticum*. Maxim выделила А. С. Романова (1965) [87]. Гликозиды глюкоалоэ-эмодин и глюкореин были тогда новыми, не описанными в литературе, а глюкоэмодин был впервые выделен из этого вида ревеня; он оказался идентичен гликозиду, выделенному немецкими исследователями Шульцом и Мейером из листьев ревеня волнистого (*R. undulatum* L) в 19 веке [89]. Более 100 различных фенольных соединений были идентифицированы или условно охарактеризованы в шести видах ревеня – *R. officinale*, *R. palmatum*, *R. tanguticum*, *R. franzenbachii*, *R. hotaoense* and *R. emodi*. Современные фитохимические исследования ревеня в Китае, Корее, Америке, Индии установили основные биологически активные ингредиенты фенольных соединений, включая антрахиноны (physcion, chrysophanol, emodin, aloe-emodin и rhein и их glucosides), антоцианы (cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside), флаваноиды (catechin, quercetin 3-Orhamnoside, quercetin3-O-galactoside, и quercetin 3-O-rutinoside), стильбен (trans-rhapontigenin) и дезоксирапонтигенин (cis-rhapontigenin, resveratrol и piceatannol) [90-91].

Существенно меньше в литературе данных о составе фенольных соединений в корнях садового или диетического ревеня *R. rhaponticum* L. Этот пробел восполнили результаты исследований Aavo Aaviksaara с сотрудниками (2003), которые, в своей публикации в журнале «Proceedings Estonian Academy of Sciences. Chemistry» доказывают, что содержание ресвератрола в корнях *R. rhaponticum* в 8 раз, а общее содержание гидроксистиленов примерно в 40 раз выше, чем в корнях *P. cuspidatum* Sieb. et Zucc. (*Reynoutria japonica* Houtt.) [92], (Таблица 1.1).

Таблица 1.1. Основные гидроксистилены в корнях *Rheum rhaponticum* и *Polygonum cuspidatum* [92]

стильбены	Концентрация, мг/г, сухой корень		соотношение R/P
	<i>R. rhaponticum</i>	<i>P. cuspidatum</i>	
(OH)3-стильбены			
Ресвератрол	3,9	0,5	7,8
Деоксирапонтин	7,44	0,5	14
(OH)4-стильбены			
Рапонтин	14,38	0	
Пикеатаннол-Glc	11,7	0	

Образцы корней и черешков *R. rhaponticum* изучала группа ученых под руководством Т. Püssa (2009) в Институте фармакологии (Тарту, Эстония). В исследовании были использованы коммерческие стандарты от Sigma Chemical Company (Сент-Луис, США); от Fluka Chemie GmbH (Buchs, Швейцария). Все растворители были приобретены у Romil (Кембридж, Великобритания). Для идентификации полифенолов ревеня проводились анализы с помощью HPLC-UV-MS². Ионная ловушка, работающая в режиме отрицательной ионизации, была соединена с прибором Agilent 1100 Series HPLC. Программное обеспечение с модулем HPLC 2D ChemStation Software с ChemStation Spectral SW были использованы для процесса управления. Был проведён детальный анализ биохимического состава надземной и подземной частей вида *R. rhaponticum* – вид, который мы используем в своих исследованиях [93]. По результатам анализа, биохимический состав подземной части *R. rhaponticum* составляют антрахиноны (эмодин, ресвератрол, рапонтин, алоэ-эмодин), а листьев *R. rhaponticum* - флавонолы (кверцетин), оксалаты и органические кислоты (щавелевая кислота).

Особенности накопления флавоноидов в органах надземной части *R. compactum* были описаны исследователями из России, во главе с А. Костиковой (2015). В результате исследования особенностей накопления флавоноидов методом ВЭЖХ в этанольных экстрактах из надземных органов ревеня авторами были выявлены флавонол кверцетин и его гликозид – рутин [94]. Данные позволяют сделать вывод, что в фазах вегетации и бутонизации надземная часть растения *R. compactum* могут быть ценным источником флавоноидов, особенно это относится к кверцетину, содержание которого в соцветиях достигает 13,06%, а в листовой пластинке 5-6%. Известно также, что листья растений рода *Rheum* накапливают более 3% органических кислот, из которых щавелевой кислоты - около 1%, как элемент токсической защиты растения от вредителей. Токсическая защита является главнейшей среди таких оборонительных стратегий растений как горький вкус, резкий неприятный запах, повышенное содержание эфирных масел, гликозидов, сапонинов, смол, кислот, танинов, оксалатов и других ядовитых, едких или вяжущих веществ [95].

Антраценовые производные находятся в растениях, чаще всего, в форме гликозидов и агликонов (эмодины). Наиболее исследованными на данный момент являются свойства эмодина, многофункциональность которого позволяет применять его в различных направлениях защиты растений. Исследователь Чиполлини М. (2000) в журнале «Revista Chilena de Historia Natural» опубликовал результаты своего обзора, указывая что эмодин был определен в 17 семействах растений, 28 родах и 94 видах. Но, в основном, эмодин

представлен в трех ботанических семействах: *Fabaceae* (*Cassia* spp.), *Polygonaceae* (*Rheum*, *Rumex* и *Polygonum* spp) и *Rhamnaceae* (*Rhamnus* and *Ventilago* spp) [96].

Имеющиеся данные позволяют предположить, что некоторые виды эмолина присутствует в определенной части растений круглый год, и, следовательно, он постоянно защищает их части от непредсказуемых экологических рисков, таких как поедание (насекомыми и позвоночными), заражение патогенами, конкуренция (аллелопатия) и высокая интенсивность света. Несколько функций в одном вторичном метаболите отметили многие исследователи [97]. Японский исследователь Идо Изхаки (2002) детально изучил разнообразные функции эмолина в растениях и назвал такие химические соединения "мастерами на все руки», объяснив их эволюцию с точки зрения тенденции природы, чтобы «поймать как можно больше мух одним хлопком» [98, стр. 205-217].

Ботаническая и биохимическая характеристика активных веществ растений рода *Rheum* дает основание считать перспективным использование растительного сырья подземной и надземной частей *R. rhaponticum* в создании средств защиты растений от патогенов и вредителей.

1.4. Роль биоактивных веществ экстрактов ревеня в защите растений

Изучая свойства эмолина в мякоти плодов, исследователь М. Л. Чиполлини (1997) обнаружил, что важной природной функцией эмолина в посредничестве взаимодействия растение-животное является фактор сдерживания питания. Эмолин, находящийся в незрелых плодах в больших концентрациях, имеет детеррентный эффект в отношении большого спектра организмов, от беспозвоночных до позвоночных, и препятствует прорастанию семян. Такой автоаллелопатический механизм может предотвратить прорастание семян внутри незрелых плодов, так как прорастание семян, не рассеянных (птицами), становится ущербом для продуктивности растений. После созревания плодов, концентрация эмолина в них значительно снижается и появляется противоположный эффект эмолина – стимуляция прорастания семян [99]. Инсектицидные свойства эмолина использовал в своем изобретении американский исследователь М. Кохэн (1984). Путем обработки нескольких типов беспозвоночных вредителей алоэ-эмолином, удалось добиться их гибели [100].

Подробное исследование механизма действия эмолина и других фенолов в экстракте корня *Rheum* было предпринято в экспериментах группы иранских ученых, во главе с М. Мехрабади (2011), по определению влияния экстракта *Rheum officinale* на активность α -амилазы четырех насекомых-вредителей запасов, включая зерновку (*Callosobruchus maculatus* F., *Coleoptera*, *Bruchidae*), зернового точильщика (*Rhyzopertha dominica* F.,

Coleoptera, Bostrichidae), амбарного долгоносика (*Sitophilus granarius* L., *Coleoptera, Curculionidae*), и кожееда зернового (*Trogoderma granarium* E., *Coleoptera, Dermestidae*). Было обнаружено, что рН α -амилазы всех четырех видов насекомых является кислым (рН = 6,7-7,0), а оптимальная температура в кишечнике составляет 30-40°C. Ингибирование синтеза α -амилазы насекомых с помощью экстракта *R. officinale* составило 95%. Снижение активности α -амилазы может быть связано с растительными соединениями, которые действуют на ферменты кишечника насекомых, α -амилазы и протеиназы. Кроме того, снижение этого фермента может быть связано с цитотоксическим действием экстракта на эпителиальные клетки средней кишки, которые синтезируют α -амилазу [101].

Сочетание рутина (кверцетин-3-глюкозид) и эмолина ингибирует питание и удлиняют сроки развития личинки непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.), а, в высоких концентрациях, вызывает выраженную смертность [102]. Исследования вредителей арахиса в Индии показали, что кверцетин и рутин в комплексе связаны с повышенной смертностью табачной совки (*Spodoptera litura* Fab.) [103]. Кверцетин, выделенный индийскими учеными из молочая (*Euphorbia hirta* L.), вызвал 94,6% смертности второго, 91,8% третьего, 88% четвертого и 85,2% пятого возрастов совки египетской хлопковой (*Spodoptera litura* Fab.), соответственно. Были подобраны летальные концентрации кверцетина для четвертой возрастной стадии личинок. Гистопатологическое обследование показало, что клеточные органеллы насекомых были сильно поражены [104]. Группа азиатских исследователей под руководством Xiao-Yun Wang (2005) инактивировали фенолоксидазу, одного из ключевых ферментов в процессе линьки насекомых, у гусениц *Semiothisa cinerearia* Bremer. (*Homoptera: Geometridae*, пяденицы) с помощью кверцетина. Результаты показали, что низкие концентрации кверцетина могут ингибировать активность фенолоксидазы, что дает ключ к улучшению борьбы с насекомыми-вредителями [105]. Исходя из выше изложенных данных, мы проводили наши опыты по изучению влияния экстракта листовых пластинок ревеня (кверцетин и рутин) на контроль местных вредителей с/х растений и запасов.

Наименее изученным направлением оказалось влияние экстрактов *Rheum* на прорастание семян при предпосевной обработке. В эти исследования большой вклад внесли работы прошлого века по изучению аллелопатического воздействия фенолов на семена [106]. Прямое воздействие эмолина на прорастание семян было изучено в ряде работ исследователей из США. Hasan (1998) обнаружил, что обработка эмолином семян подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) ингибировала прорастание до 76%, от контрольных 98%. Однако предпосевная обработка семян кукурузы *Zea mays* L. никак не повлияла на прорастание зерна. Автор считал, что существуют некоторые косвенные доказательства

того, что эмодин вместе с другими вторичными метаболитами может различно влиять на прорастание семян других видов растений, и это требует дополнительного изучения [107]. Гербицидную активность фенолов исследовал Inoue с соавторами (1992) и доказал, что эмодин, извлеченный из ренутрии (*Polygonum sachalinense* Fr. Schmidt.), демонстрирует ингибирующую активность в отношении рассады салата (*Lactuca sativa* L.), зеленого амаранта (*Amaranthus viridis* L.) и тимофеевки (*Phleum pratense* L.). При относительно низких концентрациях эмодин (50 частей на миллион) сильно ингибировал рост саженцев салата. Эмодин (более 100 частей на миллион) подавлял рост корня и гипокотыля [108].

Параллельно и независимо были проведены исследования соавторами R. R. Northup и H. Nishimura (1999) значимости влияния аллелопатических растительных полифенолов на круговорот питательных веществ и последствия для структуры растительного сообщества. Они обнаружили, что эмодин косвенно влияет на микробную экологию почвы. Эмодин в почве непосредственно снижал доступность Mn^{2+} , увеличил доступность Na^{+} и K^{+} и косвенно уменьшил наличие PO_4^{3-} . Поэтому вполне вероятно, что эмодин, который выделяется растениями, отрицательно влияет на виды, требовательные к фосфатам, истощая фосфаты почвы [109-110].

В противовес этому заявлению, O. O. Otusanya и O. J. Pori (2014) в журнале «International Journal of Biology» заявили, что эмодин может косвенно улучшать конкурентное преимущество растений в некоторых обстоятельствах, поскольку эмодин ингибирует почвенные микроорганизмы, которые могут конкурировать с растениями за неорганические вещества [111].

Такие фрагментарные и, подчас, противоречивые данные заставили нас тщательно исследовать влияние экстрактов корня и листьев *R. rhaponticum* на прорастание семян двудольных и однодольных растений и биометрические параметры проростков. Присутствие в составе экстрактов сильных бактерицидных и фунгицидных веществ позволяет использовать их в защите с/х растений от корневых гнилей. Но мы не могли исключить возможность негативного влияния экстракта на прорастание семян.

Механизмы противомикробного действия эмодина давно изучают во всем мире, в начале для медицинских, а теперь и для хозяйственных целей. По мнению классика аллелопатии, E. L. Rice (2012), способность некоторых высших растений противостоять грибным патогенам зависит от наличия эмодина, наряду с другими химическими веществами, в их тканях. Эмодин является профилактическим токсином потому, что он постоянно присутствует в растении и может непосредственно влиять на устойчивость растений к заболеваниям, вызываемым микробными патогенами [112]. Больше всего

преуспела группа ученых из Китая, во главе с ZHOU Lei (2011), в стране, где лекарственный ревень применяют 4 тысячи лет. Исследователи пришли к выводу, что эмодин может привести к повреждению бактериальной мембраны, он ингибирует синтез белка бактерии и угнетает активность лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы в регулировании окислительного дыхательного метаболизма бактерии [113].

Подтверждение, что экстракт корня *Rheum palmatum* обладает свойствами антиоксиданта, противовоспалительным и противомикробным действием, представили африканские исследователи Magda M. Aly и Nehad M. Gumgumjee (2011). Метанольный или бутанольный экстракт корня *R. palmatum*, продемонстрировал антимикробную активность против бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) и грибов (*Candida spp.*, *Creptococcus spp.*, *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*), которые были использованы в качестве тест-организмов. Механизм действия экстракта ученые связывают с активными компонентами (эмодин), которые имеют способность соединяться с внеклеточными и растворимыми белками [114].

Антимикробная активность экстракта *R. emodi* в отношении грамположительных (*Bacillus subtilis*, *Bacillus sphaericus* и *Staphylococcus aureus*) и грамотрицательных (*Klebsiella aerogenes*, *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*) бактерий была протестирована группой исследователей из Индии, во главе с K.S. Babu (2003). Так же, была доказана фунгистатическая активность экстракта из корней *R. emodi*, богатых эмодином, против фитопатогенов *Aspergillus niger* и *Rhizopus oryzae* [115]. Автор продолжил свои исследования и в 2008 году подтвердил в лабораторных опытах фунгицидную активность 20%-ного этанолового экстракта *R. emodi* и порошка из его корней против возбудителя *Fusarium solani*. Фунгистатические свойства объясняются автором присутствием эмодина в корне *R. emodi* [116]. Была показана ученым Singh U и др. (1992) в бразильском журнале по фитопатологии эффективность эмодина в подавлении прорастания 17 видов протестированных грибов, в том числе семи видов *Alternaria spp.* и трех видов *Fusarium spp.* Было достигнуто ингибирование не менее, чем 50% спор всех видов грибов при концентрации эмодина 500 мкг/мл⁻¹, а максимальное ингибирование (до 100% у некоторых видов) наблюдалось при концентрации эмодина 2000 мкг/ мл⁻¹ [117].

Антифунгальное действие экстракта из цветков *R. ribes* методом бумажных дисков на питательной среде исследовали M. Ghorbany и M. Salary (2005) из Австралии. Было доказано, что ингибирующее действие экстракта цветков *R. ribes* на рост мицелия корневой гнили *Rhizoctonia solani* составляет 96%. Опыты американских ученых подтверждают, что все части ревеня являются источником ценных биологически активных веществ [118-119]

Этанольный экстракт из корней *R. officinale* Baill в составе жидкой композиции был использован Xiaojun Yang (2009) из Китая для контроля другого возбудителя мучнистой росы *Podosphaera xanthii*. Эффективность продукта была оценена в процессе испытаний в контролируемых условиях в вегетационных сосудах, а также в открытых и защищенных грунтах в течение 2-х лет на огурце. В большинстве исследований эффективность достигла более 80%, урожайность при обработке была на 53,1% больше, по сравнению с необработанным контролем. Эти результаты показали, что экстракт *R. officinale* Baill может быть эффективным альтернативным защитным агентом растений при комплексном и биологическом контроле мучнистой росы огурца [120]. Эти данные подтверждаются и другими авторами [121].

Повышение интереса к исследованию фунгицидных свойств экстрактов *Rheum* сопровождается интересными открытиями. Исследования китайского ревеня доказали наличие нового действующего вещества в экстракте из корня *R. officinale*, которое проявило высокую эффективность в подавлении прорастания спор мучнисто росяного фитопатогена *Oidium murrayae* Nosag. Фунгицидное действие активного вещества в экстракте *R. officinale* отмечено при уровне pH экстракта от 4,3 до 6,0. А при уровне pH = 7,6 экстракт еще активней ингибировал прорастание конидий *O. murrayae*. Вещество, ингибирующее патоген *O. murrayae* в экстракте корня *R. officinale*, эффективно экстрагировалось водой, метанолом, этанолом, ацетоном или этилацетатом, но в меньшей степени, эфиром или хлороформом. Обнаруженное ингибирующее вещество в водном экстракте имеет молекулярную массу больше, чем 14000 и отрицательный заряд молекулы.

Ранее было доказано, что экстракт *R. emodi* содержит фунгистатические вещества, умеренно подавляющие рост грибов [116, 117]. Они имеют молекулярную массу в пределах от 250 до 550 и, поэтому, отличаются от ингибирующего вещества, найденного в китайском *R. officinale* [122]. Исследование химического состава ревеня активно продолжается во всем мире.

Проведенный литературный анализ позволил нам определить самые перспективные направления исследования противомикробных и инсектицидных свойств экстракта *Rheum* на местных тест-объектах (бактериальные фитопатогены, возбудители корневых гнилей, мучнистой росы, семена однодольных и двудольных растений и насекомые – вредители).

1.5. Биологически активные вещества ревеня в качестве индукторов иммунитета растений

В процессе анализа специальной зарубежной литературы, мы обнаружили примеры использования биологически активных веществ экстракта *Rheum* в качестве индукторов иммунитета растений. В настоящее время вследствие загрязнения агроценозов пестицидами и существенного нарушения защитных реакций биосистем, актуальны исследования, направленные на повышение неспецифической устойчивости растений с использованием естественных механизмов. В последние десятилетия, когда учеными России, Турции и США были определены основные информационные механизмы взаимодействия фитопатогенов с клетками растений, был предложен термин активатор (элиситор) для обозначения химических сигналов, возникающих в местах инфицирования растений патогенными микроорганизмами [123-125].

Обработка растений элиситорами (растительными экстрактами и др.) для индукции устойчивости растений, благодаря росту их фунгитоксичности, является перспективным направлением для экологизации сельского хозяйства. Однако обработка элиситорами имеет и свои недостатки – многие из веществ с элиситорным действием фитотоксичны, а кроме этого, на синтез фитоалексинов растения расходуют много энергии, и, в отсутствие эпифитотии, обработка элиситорами вызывает снижение урожая [126]. В качестве индукторов устойчивости могут выступать вещества биогенной и абиогенной природы. Индуцированная устойчивость растений к болезням имеет системный характер [127]. Выделяют две формы индуцированной устойчивости: системная приобретенная устойчивость (systemic acquired resistance – SAR) и индуцированная системная устойчивость (induced systemic resistance – ISR), которые различаются по характеру возникновения (элиситоров и запускающихся регуляторных путей) [128-129].

Молекулы, способные «запустить» эти ответные реакции, названы сигнальными. Некоторые биотические и абиотические детерминанты индуцируют системную устойчивость через салициловую кислоту, обуславливающую SAR-путь (увеличение потока ионов кальция в клетку, генерация активных форм кислорода, лигнификация клеточных стенок, синтез фитоалексинов, дефензинов, накопление PR-белков, в первую очередь хитиназы и глюканазы, а также белков, ингибиторов протеиназ и др.). Этот механизм активизируется, преимущественно, при защите от биотрофных патогенов [130-133].

Потенциал биологической борьбы растительных экстрактов для контроля фитофтороза на растениях картофеля, вызванных *Phytophthora infestans*, D. Stephan и др.

(2005) оценивали по тестам на отделенных листьях и на горшечных растениях. Экстракты из *Rheum rhabarbarum* показали существенное влияние на уровень заражения *P. infestans*. Для того, чтобы уточнить лечебные и профилактические механизмы действия, тестовые вещества были применены за 24 ч до и через 90 мин после заражения *P. infestans*. Для определения оптимального времени применения, горшечные растения обрабатывали за 72 или 24 ч до, и 1ч и 24 ч после заражения *P. infestans*. Экстракт из *P. rhabarbarum* (5% концентрация) был эффективен при применении за три дня до заражения *P. infestans*. Результаты экспериментов на горшечных растениях доказали и прямое воздействие экстракта из *R. rhabarbarum* на возбудителя, и наличие индукции экстрактом устойчивости растения против *P. infestans*. Таким образом, были доказаны не только фунгицидные, но и иммуномодулирующие свойства экстракта из корня *R. rhabarbarum* [134].

Изучением действия экстракта из корня *R. palmatum* в контроле инфекции (*Plasmopara viticola*) листьев у восприимчивого сорта *Vitis vinifera* установлено, что этот натуральный продукт является токсичным для патогена и вызывает защитную реакцию у винограда в виде накопления фитоалексина, повышения активности пероксидазы и гиперчувствительной реакции. Наблюдалось ингибирование первой стадии развития биотрофных гиф *P. viticola*. Анализ HPLC–DAD–MS показал, что этот экстракт содержит много фенольных соединений, принадлежащих к семейству антрахинонов, например, эмодин, алоэ-эмодин, хризофанол и фисцион, которые и признаны действующими веществами [135].

Механизм действия экстракта из коря *R. emodi* в качестве активатора был исследован группой из Индии, под руководством Maurya S. (2010). Экстракт оказался очень эффективен при профилактической и лечебной обработке против мучнистой росы (*Erysiphe cichoracearum*) бальзамина (*Impatiens balsamania*) в полевых условиях. Анализ обработанных экстрактом листьев методом высокопроизводительной жидкостной хроматографии (HPLC) доказал, что профилактическое действие экстракта было связано с индуцированной устойчивостью к мучнистой росе, основанной на повышении синтеза фенольных кислот в листьях после обработки [136].

Один из самых важных периодов в жизни любого растения – это прорастание и первые 15-20-е сутки после посева, когда экспрессия генов создает фенотип растения, составной частью которого является адаптация к условиям окружающей среды [137]. Поэтому исследователи из России, Америки, Индии и др. считают перспективной иммунизацию растений на ранних стадиях онтогенеза, которая позволяет с самого начала развития индуцировать в растениях достаточно высокий уровень неспецифической

устойчивости [138-139]. Это утверждение подтверждает перспективность предпосевной обработки активирующими веществами для повышения устойчивости растений на всех стадиях развития. Исследователи I. W. Kiefer и A. J. Slusarenko (2003) утверждают, что обработка вегетирующих растений определенными растительными экстрактами может вызвать устойчивость к последующим местным и системным атакам патогена. Такое индуцированное сопротивление редко приводит к полному контролю патогенных микроорганизмов, однако сокращает размер и/или количество поражений [140].

Первый химический активатор сопротивляемости - пробеназол, был зарегистрирован в Японии как «Oryzmate» в 1975 году. С тех пор были разработаны биологические активаторы в США, в том числе: «Бион» и «Actigard» (Syngenta), «Milsana» (экстракт *Reynoutria sachalinensis*; КНН BioScience). Растительные экстракты из *Reynoutria sachalinensis* (растение родственное ревеню по систематике и составу БАВ) индуцируют синтез пероксидазы, 1,3-глюканазы и фенольных соединений в обработанных культурах для защиты от инфекции мучнистой росы [141].

Действующие фенольные вещества в экстрактах растений *Rheum* и *Reynoutria*, относящихся к семейству *Polygonaceae*, являются очень схожими, так как их наличие является хемотаксономическим признаком всего семейства. Поэтому, естественен наш интерес к продуктам на их основе, запатентованным и производимым на рынке средств защиты растений. Для экологической защиты растений компанией «Marrone Bio Innovations, Inc» были созданы препараты на основе антрахинон производных, выделенных из экстрактов растений родов *Rheum* и *Reynoutria*, и зарегистрированных в качестве биохимических пестицидов. Фирма выпускает препараты «Milsana» и «Regalia» в виде жидкости, эмульсии или твердого вещества, которые обеспечивают контроль грибных патогенов. Препарат «Milsana» эффективно контролирует следующие инфекции: мучнистая роса (*Oidium* spp., *Sphaerotheca* spp, *Erysiphe cichoracearum*), серая гниль (*Botrytis cinerea*) и ржавчина (*Puccinia antirrhini*) на декоративных растениях и пищевых культурах. Механизм действия препарата заключается в индукции защитных реакций растений: активные формы кислорода, ферменты фенольного пути, одревеснение клеточных стенок, фитоалексины. Целевые растения, подлежащие защите в рамках изобретений, включают, например, следующие культурные растения: зерновые, свеклу, ягоды и плодовые, овощные растения, масличные, тыквенные, текстильные, цитрусовые культуры, а также декоративные растения. Предпочтительный способ применения комбинации продуктов является листовая подкормка и предпосевная обработка семян [142-150].

Многочисленные испытания подтверждают фунгицидное и иммуностимулирующее действие препаратов. Эффективность препарата «Milsana» (1999 и 2000), была протестирована против *Leveillula taurica* (Lev.) G.Arnaud (мучнистая роса хлопчатника) на парниковых томатах. В четырех из пяти испытаний препарата «Milsana» достигнуто снижение заболеваний в диапазоне от 42,2% до 64,6% [151]. Препарат «Regalia Махх» эффективно контролирует патогенные микроорганизмы растений и повышает урожайность при применении в качестве внекорневой подкормки сои и кукурузы. Кроме того, контролируются новые патогены растений, включая *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora* и *Fusarium*. Опубликованные в 2011 и 2012 годах данные полевых испытаний показывают, что препарат «Regalia Махх» улучшает развитие корневой системы и рост растений томатов, перца, картофеля и клубники, когда применяется в качестве предпосадочной обработки в борозды, при орошении почвы, или через капельное орошение при посадке [152].

Препарат «Kobe 1.2 SL» является весьма биоактивным фунгицидом растительного происхождения, недавно разработанным компанией ONZE Livre BV из Нидерландов [10]. Ключевые активные ингредиенты в препарате «Kobe 1.2 SL» – это естественные вещества, извлеченные с помощью уникального метода ферментации из растения *Rheum officinale* и защищены патентами. Препарат подавляет метаболизм клеток грибов и тем самым предотвращает рост мицелия на поверхности растения, а также ограничивает рост конидий. Препарат обеспечивает эффективную защиту против мучнистой росы – среди них овощные культуры, декоративные растения и злаки. Как продукт с низкой токсичностью для людей и скота, он безопасен для окружающей среды и может использоваться в овощеводстве.

В Китае компанией Kingbo Biotech LTD VEGAR недавно разработан биологически активный фунгицид растительного происхождения, препарат «VEgard 0,5% С». Он обеспечивает превосходную эффективность в профилактике мучнистой росы, ложной мучнистой росы и серой гнили многих зерновых культур и овощей, активный ингредиент – фисцион (эмодин). Препарат обладает очень низкой токсичностью для человека, домашних животных и окружающей среды и может быть использован в органическом земледелии. Также, это отличное дополнение к смешанному применению в системе интегрированной защиты растений [11].

При использовании сочетания иммуностимуляторов с фунгицидами исследователями было доказано, что борьба с болезнями, обеспечиваемая иммуностимулятором, уступала контролю, полученному фунгицидами. Однако

использование иммуностимулятора в сочетании с пониженной дозой фунгицида может обеспечить гораздо более высокий уровень контроля заболевания [153-155].

Тенденции Европейского Союза направлены на значительное сокращение использования пестицидов в краткосрочной и среднесрочной перспективе. Поэтому существует острая необходимость в дополнительных подходах к контролю болезней растений, а индуцированная резистентность предлагает перспективу долгосрочного контроля заболеваний широкого спектра при использовании собственной резистентности растений [156]. В этой связи особенно популярными становятся экологические препараты, сочетающие в себе комплекс фунгицидного и иммуностимулирующего действия. Именно эти качества присутствуют в экстрактах из корня и листьев *Rheum*.

В Республике Молдова созданием препаратов – регуляторов роста растений на основе растительных экстрактов занимались такие исследователи, как П.К. Кинтя, В.И. Войняк, Л.Г. Клешина, В.А. Тодираш, А.П. Даскалюк. [157-158]. Исследования по применению растительных экстрактов в защите растений от болезней и вредителей проводили Т.Н. Настас, Д.С. Елисовецкая, В.А. Тодираш, Л.Ф. Волощук [159-160]. Изучение интродукции, акклиматизации и агротехники выращивания лекарственных растений (ревеня, в частности) в Республике Молдова проводил В.Н. Флоря [161]. Работы этих ученых по применению иммуномодулирующих, инсектицидных и фунгицидных свойств растительных экстрактов послужили основой для настоящих исследований в этой области. Основываясь на исследовательском опыте ученых мира и Республики Молдова, мы изучали биологические свойства ревеня и его потенциал в защите растений от болезней и вредителей в экологическом земледелии.

1.6. Хозяйственные преимущества выращивания и использования ревеня в условиях экологического земледелия

Один из современных мировых трендов – органическое сельское хозяйство активно набирает обороты во всем мире. Основные показатели производства органической продукции в мире, по данным Исследовательского Института Органического Сельского Хозяйства (FiBL) и Международной Федерации Движений Органического Сельского Хозяйства (IFOAM), площади земель под органическим производством в мире непрерывно растут [2]. За восемнадцать лет их размер увеличился почти в 4 раза и в 2014 г. составил 43,7 млн. га (Рисунок 1.2).

Статистическая информация об органическом сельскохозяйственном производстве поступает из 172 стран мира. С каждым годом их количество постепенно растет. В Европе

все страны, без исключения, имеют органический сектор. В Африке органическое производство развивается в 70% стран, Азии – 79%, Южной Америке - 72%.

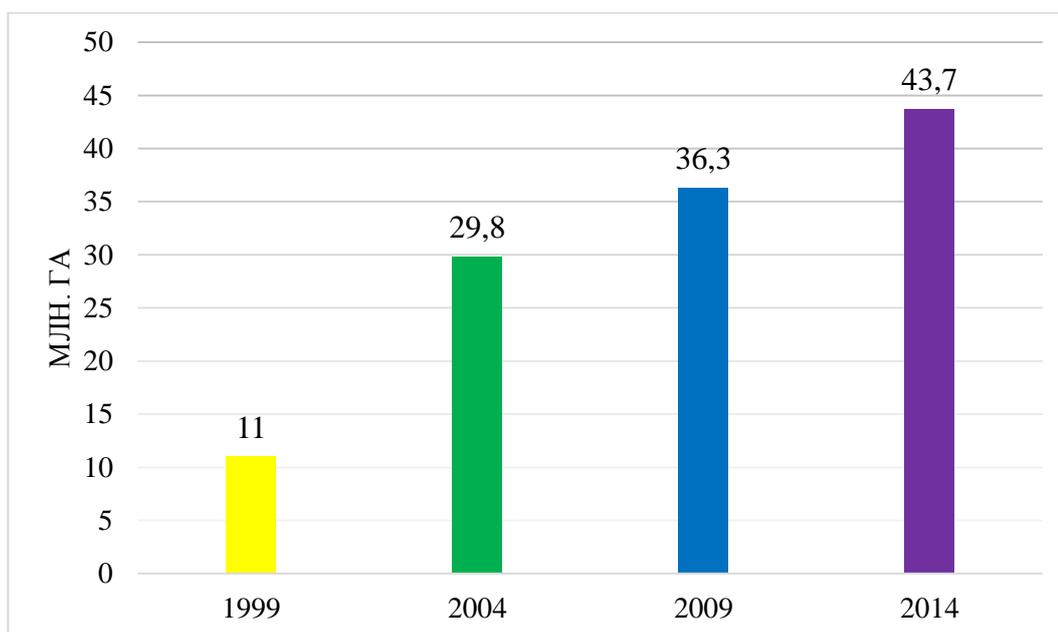


Рис. 1.2. Динамика площадей, занятых под производство органической сельскохозяйственной продукции в мире, 1999 – 2014 гг. [2]

В целом, доля сертифицированных земель составляет 2,4% общей площади сельскохозяйственных угодий континента (Таблица 1.2).

Таблица 1.2. Распределение стран мира с органическим сектором сельского хозяйства по континентам, 2014 [2]

Показатель / континент	Количество стран с органическим сельским хозяйством	Количество стран на континенте	Доля стран с органическим сельским хозяйством к общему кол-ву, %
Африка	39	56	70
Азия	37	47	79
Европа	47	47	100
Латинская Америка	33	46	72
Северная Америка	3	5	60
Австралия	13	26	50
Всего в мире	172	227	76

По площади земель, занятых под органическим производством с/х продукции в Европе лидирует Испания (1,7 млн. га), по количеству производителей органической продукции – Турция (71,5 тыс.). Средняя площадь хозяйства, занимающегося ведением органического производства в Европе, составляет 34 га. Стремительный рост площадей сельскохозяйственных угодий, занятых под органическим производством в странах

Европы, начался в 1990 г. и продолжался до 2002 г. В настоящее время эта тенденция сохраняется, однако темпы роста заметно сократились (Рисунок 1.3).

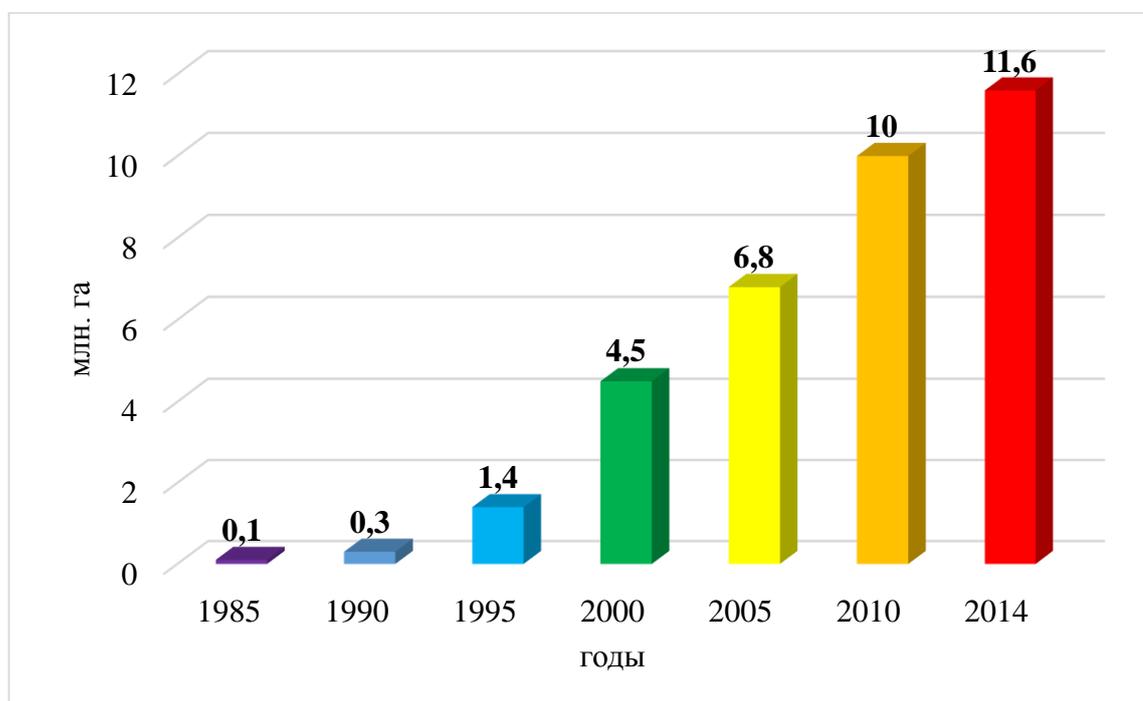


Рис. 1.3. Динамика сельскохозяйственных площадей, занятых под органическим производством сельскохозяйственной продукции в Европе за период 1985 – 2014гг [2]

Следует отметить, что в европейских странах в структуре посевов преобладают культуры на зеленый корм – 44% и зерновые – 41%. В структуре многолетних насаждений наибольший удельный вес занимают оливковые – 44,5%, на виноградники приходится 24%, ореховые – 16,3%, фруктовые – 11,5%. Современное состояние органического земледелия в республике Молдова и соседних странах отражает таблица 1.3.

Таблица 1.3. Основные показатели современного состояния органического земледелия на 2014 год [2]

Страна	Площадь в (га)	Доля от всех пахотных земель, (%)	Число производителей	Продажи (Миллион Евро)	Евро на человека	Доля продажи органической продукции от общей, (%)
Молдова	22,102	0,9	172	0	0	0
Украина	400,764	1	182	15	0	0
Румыния	289,252	2,1	14.159	80	4	0,7

Больше всего площадей под органическое земледелие использует Украина, но наибольшее число производителей и продаж органической продукции принадлежит Румынии. Молдова находится пока в начале пути. Эволюция органического земледелия

Республики Молдова (2003-2016): в 2003г под органическое земледелие были заняты 80 га; а в 2016 г – были заняты 13083 га и 48561 га находились в конверсии. Эволюция экспорта органической продукции: в 2003 г объем экспорта составлял 1373 тонн; в 2016 г – 80817 тонн. В 2017 году объем производства экологической сельскохозяйственной продукции составил 83637 тонн.

Во всем мире органическое сельское хозяйство, в основном, практикуется в небольших крестьянско-фермерских хозяйствах и личных подсобных хозяйствах. Для них это способ повысить свою рентабельность и доходы, выделить свою продукцию среди массовой. По данным ВНИИ Агрэкоинформ, при переходе на технологии органического сельского хозяйства происходит повышение рентабельности сельхозпроизводства не менее, чем на 30%. ООН проводила исследования, согласно которым при реорганизации хозяйств с внедрением методов органического производства, продуктивность малых форм сельского хозяйства повышалась на 116%, а доходы фермеров увеличивались в 2-3 раза. Однако, необходимо принимать во внимание настораживающую статистику, представленную в таблице 1.4.

Таблица 1.4. Количество вредных организмов и их воздействие на продуктивность сельскохозяйственных культур

Показатели	В мировом масштабе	Содружество Независимых Государств	Республика Молдова	
			вплоть до 1990 года	после 1990 года
Количество видов вредных организмов	18 400	1400	600	610
Периодичность вспышек вредных организмов с неконтролируемым воздействием	каждый год	каждые 2-4 года	каждые 2-4 года вспышки заболевания; через 5-7 лет вспышки вредителей	каждые 2-3 года вспышки заболевания; каждые 4-5 лет вспышки вредителей
Объем пестицидов, используемых для борьбы с вредными организмами (тыс. тонн)	15000	750	46	2,5-3,0
Убытки, вызванные вредными организмами	185,0 млрд. долларов США	-	-	2,0-2,5 млрд. леев

В целях производства органической продукции возникла очевидная необходимость поиска новых, альтернативных, экологически чистых методов защиты растений. Продукты растительного происхождения признаны весьма эффективными, социально приемлемыми,

биоразлагаемыми и ориентированными на конкретные патогены. Растительные экстракты (экстракты растений рода *Rheum*) являются целесообразными, как средства борьбы с вредителями и болезнями, в составе интегрированной защиты и облегчают бремя тяжелой зависимости от синтетических пестицидов. Эти методы являются трудоемкими, но экономически и экологически безопасными, так как не требуют сложных технологий и подходят для фермерских хозяйств в экологическом земледелии [162].

Rheum является достаточно перспективной культурой для органического сельского хозяйства, исходя из его пищевых и лекарственных свойств. Препараты из растений рода *Rheum* используются для лечения сердечно-сосудистых (ресвератрол, трансверол), желудочно-кишечных заболеваний (таблетки и настойки), а также в качестве противоопухолевых средств (эмодин). Дубильные вещества (танины) обладают антибактериальными, фунгицидными, противовирусными, иммуномодулирующими свойствами. Все новые и новые исследования подтверждают лекарственные свойства эмодина, полученного из *Rheum*. Результаты исследований Ui-Jin Vaea (2015) свидетельствуют о том, что эмодин защищает β -клетки от диабетогенных инсультов. Эмодин может иметь терапевтическое значение при предотвращении развития диабета типа 1, путем защиты от повреждения β -клеток [3].

Рассмотрим, например, ресвератрол – природное биологически активное вещество из группы полифенолов, мощный кардиопротектор, фитоалексин, бактерицид, фунгицид. Ресвератрол может синтезироваться в растениях при высушивании, воздействии УФ излучения, озона, тяжелых металлов [4-5]. Доказана активация синтеза ресвератрола в ответ на грибные инфекции растений и его фунгицидное действие [6]. Группа исследователей, во главе с Matsuda H. (2004) извлекли ресвератрол из ревеня корейского (*R. undulatum*) [7].

Необходимо отметить, что *R. rhaponticum* применяют не только в медицине, но и в пищевой промышленности. В настоящее время в мире известно более 200 сортов овощного ревеня. Предпочтения отдают сортам с длинными толстыми черешками, которые не распадаются на волокна при переработке, не обладают слишком кислым вкусом, устойчивы к вирусным болезням и дающие высокие урожаи. Урожайность устойчивого к заболеваниям и повреждению вредителями сорта Виктория, например, достигает свыше 500 г черешков с одного растения. Сбор урожая начинают в апреле – мае, когда черешки достигнут длины 30-60 см, и продолжают до середины июня. Урожайность ревеня в первые годы составляет 4-6 т/га, на 6-7-й год достигает 25-30 т/га и более [8]. Исходя из вышеизложенного в РФ даже разработан регламент оценки качества черешков ревеня – РСТ РСФСР 362-77 «Ревень овощной свежий» [163-164].

Черешки ревеня содержат значительное количество влаги (91,5 %), органических кислот (1,0 % - яблочная, лимонная, янтарная, щавелевая), среди которых преобладает яблочная – в весеннем ревене и щавелевая – в осеннем. В ревене довольно много пектиновых веществ (1,0-2,5 %) и пищевых волокон (до 3,2 %). Черешки ревеня употребляют в свежем, консервированном, сушеном, замороженном виде и для приготовления разнообразной продукции с высокой витаминной ценностью, в том числе кулинарной – киселей, компотов, повидла, варенья, цукатов, начинок для пирогов, салатов, соусов, соков, пудингов, джемов, пюре, супов и др. [8]. Исследователи, во главе с Кацериковой Н. В., дали комплексную оценку показателей качества и безопасности доступного растительного сырья «корней ревеня сушеных» для получения красящих экстрактов для нужд пищевой промышленности и общественного питания. Установлено, что красящий экстракт обладает бактериостатическими, антиоксидантными и антисептическими свойствами, позволяющими увеличить срок хранения продуктов и улучшить их качество, по сравнению с традиционными [9]. Способы применения, в зависимости от биохимического состава различных частей растения, представлены в обобщающей таблице 1.5.

Таблица 1.5. Биохимия и применение различных частей растения ремень

Часть растения	Биохимический состав	Применение
Черешки	Органические кислоты (1,0%); пектин (1,0-2,5%); клетчатка (до 3,2%). Минералы (мг/100г): К (325), Са (44), Mg (17), Р (25). Витамины (мг/100г): С (10), В2 (0,1), РР (0,1), Е (0,2), А (0,2)	В пищевой промышленности производят цукаты, сироп, варенье, пастилу, напитки, кондитерские изделия.
Листья	Кверцетин (до 6%), рутин, оксалат кальция, органические кислоты (3%), антрахинон-гликозиды	В пищевой промышленности: гарниры, соусы, полуфабрикаты. В защите растений: инсектицид для листогрызущих вредителей.
Соцветия	Кверцетин (до 13%), рутин,	В защите растений: фунгицид
Корень	Таногликозиды (от 6 до 10 %). Антрагликозиды (от 3 до 6 %): <i>эмодин</i> (антисептик, противовирусное, слабительное, противоопухолевое, противоязвенное, гонадотроп, иммуносупрессант), <i>фисцион</i> (антисептик), <i>хризофанол</i> (антисептик, бактерицид, фунгицид), <i>ресвератрол</i> . Флавоноиды: кверцетин (детоксикант), катехин (антиоксидант). Кислоты: Коричная кислота (фунгицид, бактерицид, онкопрофилактическое, слабительное), галловая кислота (антисептик, бактериостатик, антиоксидант, противовирусное)	В медицине: таблетки (корень ревеня, ресвератрол, трансверол); БАД (сироп, таблетки, порошки, чай). В косметологии: шампунь, крем, бальзам, духи. В пищевой промышленности: краситель, антисептик. В защите растений: фунгицид, инсектицид, антифидант, стимулятор.

Известно, что экстракт листьев ревеня содержит более 3% органических кислот (инсектицид, антисептик, активатор), которые обладают ростостимулирующей активностью и стабильно активируют показатели всхожести семян [165-167]. Экстракты из корней и листьев ревеня можно считать перспективным и доступным источником кверцетина (низкомолекулярный антиоксидант, субстрат пероксидазы, пестицид, антифидант, бактерицид, противовирусный, ингибитор альдозы-редуктазы). В регуляции покоя и индукции прорастания семян кверцетин играет важную роль, как негормональный регулятор роста [168].

Наряду со всеми известными данными о пользе ревеня в различных областях, недостаточно данных о применении его в защите растений. Мы, рассмотрев свойства вторичных метаболитов ревеня, увидели перспективу в использовании побочных продуктов его промышленного использования (листья и корни), в качестве источника соединений для создания средства защиты растений, сочетающие в себе несколько типов биологической активности. Таким образом, становится возможным создание безотходной переработки растительного сырья ревеня, в качестве добавочной культуры в органическом сельскохозяйственном производстве. А использование растительных средств в защите растений экофермы от вредителей и болезней позволит снизить количество химических обработок, уменьшив тем самым загрязнение экосистем.

2. Материалы и методы исследований

2.1. Место и условия проведения опытов

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). Количественный анализ биоактивных веществ экстрактов ревеня проводили в Государственном университете Молдовы, на факультете химии и технологии химии.

2.2. Материалы исследований

Предметом нашего исследования являлись биоактивные вещества растений *R. rhaponticum*. Материал для исследований (растительное сырье *R. rhaponticum*) выращивали в период 2012 – 2018 гг. на опытных участках Института Генетики, Физиологии и Защиты растений. В 2014 году нами были высажены семена *R. compactum* L и создана плантация, которая достигла в 2019 году 5-и летнего возраста. В 2017 году успешно выращен на опытном участке китайский медицинский ремень *R. palmatum* var. *tanguticum* Maxim, и мы проводили наблюдение за интродукцией растений в местных условиях.

В ходе исследования использовали корни, соцветия и листья растений ревеня ручного сбора. Хранили растительное сырье, высушенное до воздушно-сухого состояния, в упакованном виде в помещении, защищенном от света (под влиянием света корень ревеня темнеет). Сырье состоит из кусков корней, толщиной до 3 см. Куски корня снаружи покрыты темно-бурой пробкой, внутри бурые или оранжево-бурые. Излом ровный зернистый бело-оранжевый. Запах своеобразный. Вкус горьковатый, вяжущий. Сырье соответствует требованиям ГФ-Х, ст. 574. Срок годности сырья составляет 5 лет [169-170]. Высушенное растительное сырье измельчали в электрической лабораторной мельнице. Измельченное сырье хранили в темном месте при температуре воздуха 20-22⁰С.

Исследования влияния экстрактов *R. rhaponticum* на контроль различных фитопатогенов и вредителей сельскохозяйственных растений проведены в климатических условиях Республики Молдова. В целях получения полных практических данных о спектре биологических свойств экстрактов *R. rhaponticum*, в качестве тест-объектов были использованы виды, принадлежащие к различным систематическим группам. Рассмотрим распространение и вредоносность фитопатогенов и вредителей сельскохозяйственных растений Республики Молдова, использованных в работе.

Наиболее значимыми фитопатогенами зерновых культур являются микромицеты рода *Fusarium*, которые способны вызывать поражение всех вегетативных органов и

контаминировать зерно микотоксинами в период вегетации и хранения. Исследования микофлоры семян являются неотъемлемым этапом мониторинга фитосанитарного состояния злаковых растений в целом, поскольку внутрисеменная инфекция является серьезным препятствием для выращивания полноценных растений, свободных от возбудителей болезней и синтезируемых ими биологически активных веществ [174]. Поражение зерна фузариозом обуславливает его щуплость, резкое ухудшение химико-технологических качеств — уменьшение содержания белка, клейковины, снижение качества муки. При использовании зараженных семян для посева происходит торможение прорастания семян, роста корней и зародышевого побега. Полевая всхожесть семян снижается, выжившие растения имеют пораженную корневую систему, вегетативные и генеративные органы. Урожайность снижается до 50%.

Проблема микотоксикозов — токсикозов, возникающих в результате поражения растений или продукции растительного происхождения токсикогенными грибами, является актуальной. Грибы рода *Fusarium* sp. относятся к классу Несовершенные грибы — *Deuteromycetes* (*Fungi imperfecti*), порядку *Hyphomycetales* (*Hyphales*). Возбудители фузариотоксикозов — грибы рода *Fusarium* — вызывают отравления с летальным исходом у животных и человека. Наибольшее эпидемиологическое и эпизоотологическое значение имеют следующие виды, относящиеся к роду *Fusarium*:

- 1) *Fusarium graminearum* Schw. — (токсины: дезоксиниваленол (ДОН), ниваленол (НИВ) и зеараленон) возбудитель «пьяный хлеб» — поражение центральной нервной системы с летальным исходом;
- 2) *Fusarium sporotrichiella* Bil. — (Т-2 токсин) возбудитель «септическая ангина» — тяжелое заболевание органов кроветворения;
- 3) *Fusarium moniliforme* Sheldon. — (токсин фумолизин) токсины обладают канцерогенным действием.

По данным специалистов BIOMIN, общий риск заражения сырья микотоксинами в Восточной Европе составляет 26%. Наибольшую опасность здесь представляют токсины ДОН (53%), Т-2 (38%), зеараленон (33%), фумонизин (26%) [175].

Характеристика тест-объектов:

1. Фузариоз початков кукурузы (*Zea mays* L.) — *F. moniliforme* (1976); класс *Deuteromycetes*, царство *Mycota*. Колонии быстрорастущие. Воздушный мицелий плотный, нежно-хлопьевидный, войлочный, кремового, бледно-телесного цвета, позднее приобретающий фиолетово-сиреневые оттенки. Конидиеносцы образуются как боковые ответвления на гифе и несут 2–3 монофиалиды. Микроконидии одноклеточные, в длинных

цепочках, булавовидные с усеченным основанием, 2–5×4–20 мкм. Из-за наличия большого количества микроконидий в цепочках колония гриба имеет припорошенный вид. Макроконидии в основном с 3 или 5 перегородками, прямые или немного изогнутые, веретенообразные, тонкостенные, 3–4×30–60 мкм. Перитеции округлые, 150–300 мкм в диаметре, с грубой оболочкой [171, 172, 176].

2. Фузариоз всходов кукурузы (*Zea mays* L.) – *F. graminearum* (1839); класс *Deuteromycetes*, царство *Mycota*. Колонии быстрорастущие. Воздушный мицелий хорошо развит, пушистый, хлопьевидный, бело-розовый, с возрастом в центре появляются желтые оттенки. Конидиеносцы образуются на гифах воздушного мицелия, в дальнейшем обильно ветвятся. Макроконидии веретеновидно-серповидные, эллиптически изогнутые, большей частью с одинаковым диаметром на протяжении всей длины, в основном с 5 перегородками (иногда с 3–6). Размеры макроконидий с 5 перегородками 4–7×40–60 мкм. Микроконидии отсутствуют. Хламидоспоры формируются в гифах, макроконидиях, бывают одиночные, в цепочках или кластерах, окрашенные. Перитеции округлые, около 150–300 мкм в диаметре, с грубой оболочкой. Сумки в перитециях содержат по 8 аскоспор с 3 перегородками (3–6×15–30 мкм) [171, 172, 176].

3. Фузариоз сои (*Glycine max* L.) – *F. sporotrichiella* (1915); класс *Deuteromycetes*, царство *Mycota*. Колонии быстро растущие. Воздушный мицелий обычно обильный, пушистый, иногда порошистый, белый, бело-розовый, розоватый, желтовато-красноватый. Конидиеносцы неразветвленные и разветвленные, несущие монофиалидные, полифиалидные и полибластические конидиогенные клетки. Спороношение начинается быстро с образованием многочисленных микроконидий, собранных в ложные головки. Микроконидии шаровидные, шаровидные с остроконечием, яйцевидные, грушевидные, веретеновидные, большей частью одноклеточные, реже с 1–3 перегородками. Размеры одноклеточных микроконидий 5–10×4–9 мкм. Макроконидии образуются в воздушном мицелии, веретеновидно-серповидные, обычно с 3 перегородками (реже с 5–7 перегородками). Размеры макроконидий с тремя перегородками 26–40×3–5 мкм. Хламидоспоры обильные, часто формируются в гифах, обычно собраны в цепочки, окрашены [173, 176].

4. Мучнистая роса культур сем. *Cucurbitaceae* – *S. fuliginea* Poll.; класс *Ascomycetes*, царство *Mycota* – возбудитель заболевания культур *Cucurbitaceae*. Мучнистая роса проявляется в виде белых мучнистых пятен, сначала на верхней, а затем на нижней стороне настоящих листьев огурца. При сильном поражении листья и стебли сплошь покрываются мучнистым налетом, листья желтеют, буреют, становятся хрупкими и засыхают. На стеблях

налёт спороношения проявляется только на последних стадиях эпифитотии. Наиболее благоприятные условия для развития болезни — это повышенная влажность, около 60-80% и температуры воздуха, в пределах 18-20°C. Урожайность из-за болезни может снизиться на 40-50% [177].

Было установлено, что мучнистую росу огурца и дыни в теплицах Республики Молдова вызывают *Erysiphe cichoracearum* DC. и *S. fuliginea* Poll. Замечено, что *E. cichoracearum* появляется в теплице на 1-1,5 месяца раньше, чем *S. fuliginea*, однако второй патоген развивается наиболее интенсивно, и к концу мая становится преобладающим. До конца вегетации растений в июне-июле и весь осенне-зимний культурооборот основным возбудителем на огурце и дыне является *S. fuliginea*. На арбузе паразитирует *E. cichoracearum*. Конидии возбудителей на мертвом субстрате жизнеспособность сохраняют различное время. Так конидии *S. fuliginea* теряют способность прорасти уже через 7 суток, а *E. cichoracearum* прорастали спустя 2 месяца после срыва листа. Заражение здоровых растений огурца удавались конидиями *S. fuliginea* через 5 суток после срыва листа; конидиями *E. cichoracearum* – через 35. При этом инкубационный период для обоих видов при температуре 20-22°C и относительной влажности воздуха 70-85% составлял 6-8 дней. Возбудители мучнистой росы в теплице могут сохраняться в виде клейстотеций (*S. fuliginea*) и конидий (*E. cichoracearum*) [178]. Зимует грибок (*S. fuliginea*) в сумчатой стадии (в виде клейстотециев) на растительных остатках. Сильному распространению болезни способствуют резкие колебания температуры и влажности воздуха, полив холодной водой. Вредоносность мучнистой росы усиливается при сухой и жаркой погоде, когда тургор растения снижается и облегчается проникновение возбудителя в растение через покровные ткани [179].

5. Бобовая тля — *Aphis fabae* Scop.; семейство *Aphididae*, класс *Insecta*. Бобовая тля, мигрируя на свеклу в конце мая — начале июня, дает за период вегетации 10-14 поколений. Питается на 200 видах растений, значительные повреждения наносит свекле, подсолнечнику, многим видам бобовых, пасленовых и тыквенных культур. Сильно поврежденные тлей растения отстают в росте, резко снижается урожай (50% к контролю), абсолютный вес и качество семян. Токсичное воздействие на растение пищеварительных ферментов, выделяемых тлями при питании, продолжается и после уничтожения вредителя. Бобовая тля является переносчиком вируса желтухи и мозаики свеклы, а также вирусов картофеля L и Y. Пороги вредоносности: фаза 3-6 пар настоящих листьев – 5% заселенных растений на краевых полосах или 10% в среднем по полю; появление первых колоний тлей – 15-20% заселенных растений; в течение сезона – 20-30% заселенных растений [180].

6. Зеленая яблонная тля – *Aphis pomi* Degeer., семейство *Aphididae*, класс *Insécta*. Тело бескрылой партеногенетической самки овальной формы желтовато-зеленого цвета с коричневой головой длиной до 2 мм, по бокам имеются маргинальные бугорки. В жизненном цикле насекомого встречаются как бесполое, так и половое поколение. Вид однодомный. Зимует тля в фазе яйца у основания почек на молодых побегах яблони, груши, сливы, рябины и других древесных культур (основное растение-хозяин). В результате поражения тлей молодые листья скручиваются, прекращают рост и засыхают. Такие повреждения значительно снижают морозостойкость саженцев и молодых яблонь. В годы, благоприятные для развития вредителя, заселённость саженцев может достигать 100%, а при отсутствии защитных мероприятий погибает до 4,5% однолетних саженцев [181-182].

Пороги вредоносности для яблонной зеленой тли следующие: до распускания почек 4-10 яиц/10 см/ветки; после распускания 200-400 почек личин. /100распустившихся почек; 25 тлей/100 веток при отряхивании; 8- 10 колоний/100 веток; 5% заселенных листовых розеток; 15 колоний/100 листьев; в конце вегетации 10-15 колоний/100 веток [181].

7. Злаковая тля – *Schizaphis graminum* Rondani., семейство *Aphididae*, класс *Insécta* - олигофаг, вредитель злаков. Предпочитает ячмень, овес, озимую и яровую пшеницу, просо, рис, сорго. Вид однодомный, развитие неполное, размножение двуполое и партеногенетическое. Зимует яйцо, за вегетационный период развивается до 30 поколений. Сильное заражение молодых растений в период выхода в трубку способно нанести серьезный вред и привести к гибели растений. Одновременно злаковая тля переносит вирусы желтой карликовости ячменя и мозаики костра безостого. Места повреждений на растении обесцвечиваются, иногда краснеют. Экономический порог вредоносности: при обнаружении 10-15 тлей на колос [183].

8. Вредитель запасов зерновая моль – *Sitotroga cerealella* Oliv., отряд *Lepidoptera*, семейство *Gelechiidae*, класс *Insécta*. Бабочки появляются в марте – апреле. Самка за свою жизнь (5-13 суток) откладывает яйца по одному или группами до 15 шт. на зернах. Плодовитость до 150 яиц, максимум 283. Яйца развиваются от 4 до 28 дней, в зависимости от температуры окружающей среды. Отрождающаяся гусеница прогрызает оболочку зерна и проникает внутрь, где питается эндоспермом и заканчивает развитие до бабочки. Для полного развития требуется только одно зерно. Развитие куколки продолжается в летнее время от 7 до 10 дней, осенью до 14-15, в зимнее время может сильно затягиваться. Благоприятная температура 27-28°C, минимальная температура развития 13°C, оптимальная влажность среды 15-16%, плодовитость до 283 яиц, поколений в год 3-8, коэффициент вредоносности 1,1, порог вредоносности 4. Зимуют в фазах гусеницы и

куколки. Гусеницы зерновой моли повреждают зерно кукурузы, ячменя, ржи и пшеницы. При отсутствии борьбы с молью за 6 месяцев хранения уничтожается до 40% хранящихся запасов. Среди биологических мер борьбы стоит отметить феромонные ловушки и растительные экстракты [184]. Экстракты из *Acorus calamus* L. (айр), *Azadirachta indica* Juss. (ним) и *Curcuma longa* L. (куркума), на основе эфира, ацетона и этанола, оценивали в качестве ингибитора роста против *S. cerealella* [184-186].

Перечисленные тест-объекты были использованы в исследованиях на различных фазах и стадиях своего развития: в фазе семян (соя и кукуруза); в фазе вегетации (тыквенные культуры); на стадии яйца с последующим отрождением (зерновая моль); на стадиях имаго и личинки (тля).

2.3. Методы исследований

2.3.1. Методы исследования растительного сырья и оптимизации технологии выращивания *Rheum rhaponticum* L.

Первоначальным этапом работы было получение сырья растений рода *Rheum* в необходимом количестве для использования в наших экспериментах. Были исследованы и применены основные агротехнические приемы выращивания и размножения ревеня [187-188]. Методом визуального исследования были определены особенности развития ревеня на всех фазах развития, его болезни и вредители в условиях Республики Молдова. Были проведены сравнительные лабораторные и мелкоделяночные опыты с целью оптимизации способа размножения ревеня в климатических условиях Республики Молдова. Также, была решена проблема низкой всхожести семян ревеня. Исследователи (Badoni A., 2009) индийского лекарственного высокогорного вида *R. emodi* Wall ex Meissn., столкнувшиеся с подобной проблемой, установили, что значительное снижение всхожести семян зависит от их возраста, и двухгодичные семена этого вида без предпосевной обработки полностью теряли всхожесть [189]. Для повышения всхожести семян *R. rhaponticum* нами были протестированы наиболее перспективные микроорганизмы – продуценты биопрепаратов, из имеющегося в институте ассортимента. Проведенный опыт состоял из 7 вариантов в 4-х кратной повторности. Обработку проводили суспензиями микроорганизмов *Azotobacter chroococcum* Beijerinck., *Agrobacterium radiobacter* Young et al., *Pseudomonas fluorescens* Migula., *Bacillus subtilis* Cohn. и их комбинации, а также биопрепаратами Gliocladin-SC, основой которого является микромицет *Trichoderma virens* Miller, Giddens and Foster, штамм 3X и Trichodermin-SC – продуцент *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz., штамм - 10. Суспензии использовали для замачивания семян на сутки с последующим их проращиванием (по 30 семян для каждого варианта). Препаратами Gliocladin – SC и

Trichodermin-SC провели обработку влажным методом. Всхожесть семян и биометрические параметры проростков определяли через 10 дней. В результате данных исследований были отобраны наиболее эффективные суспензии, и опыты с препаратами Gliocladin – SC и Trichodermin-SC продолжили по разработкам Т. Щербаковой [190].

Микроскопический и анатомо-морфологический анализ корней *R. rhaponticum* для выявления диагностических признаков растительного сырья был проведен по стандартным методикам [191-192]. Изучали общий вид поперечного среза корня *Rheum* с годичными кольцами. Анатомическое строение изучали, исследуя детали структуры препарата при увеличении ($\times 100$). Приготовленные микропрепараты (тонкие поперечные срезы корней *Rheum*) помещали на предметное стекло в каплю воды, накрывали покровным стеклом, слегка подогревали до удаления пузырьков воздуха и после охлаждения рассматривали под микроскопом [193-195].

В целях обнаружения антраценпроизводных в растении *R. rhaponticum* были использованы методы микроскопирования в сочетании с гистохимическими реакциями. Реакция образования фенолятов со щелочью заключалась в том, что при добавлении нескольких капель раствора щелочи образуется вишнево-красное окрашивание. Окраска при взаимодействии со щелочью появляется только у окисленных форм антраценпроизводных (антрахинонов). В наших исследованиях были использованы следующие гистохимические реакции [12]:

- 1) с раствором Люголя, на крахмал и крахмальные зерна (окрашиваются в синий, сине-фиолетовый цвет);
- 2) с 33% водным раствором натрия гидроксида, на опробковевшие оболочки (окрашиваются в красный цвет).

Известно, что соотношение окисленных (антрахинонов) и восстановленных (антранолов) форм в растениях ревеня изменяется в зависимости от фазы вегетации. В летне-осенний период в корне *R. rhaponticum* больше антрахинонов, в зимний — антранолов. При хранении сырья в нем увеличивается количество антрахинонов вследствие ферментативного окисления антранолов [196-197]. Исходя из этих особенностей, корни ревеня заготавливали осенью и ранней весной. Была применена естественная, воздушно-тенивая сушка.

2.3.2. Разработка методических приемов получения экстрактов *Rheum rhaponticum* L. и определение наличия в них фенолов и флавоноидов

Выделение биоактивных веществ из растений *R. rhaponticum* является одной из важных стадий в получении средства для защиты растений. От эффективности, полноты извлечения биоактивных веществ и технологии выделения зависит степень чистоты получаемого продукта, качество сырья, себестоимость средства. Выбор метода определяется в первую очередь свойствами выделяемых соединений. Российские исследователи Букеева А. Б. и Кудайбергенова С. Ж. предложили обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений [198]. Все существующие методы выделения биоактивных веществ из растений можно разделить на экстракционные и дистилляционные. Вместе с тем для очистки и разделения, препаративного выделения применяются хроматографические методы. Наиболее приемлемыми для нас, явились методы водно-этанольной экстракции.

Сравнительная оценка подходов к стандартизации корней ревеня в фармакопее различных стран, содержащих антраценпроизводные, свидетельствует об актуальности проведения новых исследований в области качественного и количественного анализа этого растительного сырья (Таблица 2.1) [200].

Таблица 2.1. Сравнительный анализ подходов к стандартизации корней ревеня, используемых в мировой фармацевтической практике [200]

Наименование	ГФ СССР XI издания	ГФ РФ XIII издания	Британская фармакопея	Фармакопея США
	Качественный анализ			
Корни ревеня тангутского	Пробирочная реакция: -реакция Борнтрегера	ТСХ СО: эмодин	-	-
	Количественный анализ			
Корни ревеня тангутского	Фотоэлектроколориметрия: $\lambda=530$ нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин	Спектро-фотометрия: $\lambda=468$ нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на барбалоин	Фотоэлектроколориметрия: $\lambda=530$ нм. Сумма антраценпроизводных в пересчете на истизин	-

Результаты многочисленных биохимических исследований экстрактов корня ревеня, проведенных различными авторами, показали, что экстракт содержит, в основном, танины, фенолы и флавоноиды. Проведя высокотехнологичные сравнительные исследования количественного состава фенолов в различных типах экстрактов *Rheum*, Ibrahim E. A. (2016) и др. отметили, что в этаноловом экстракте ($1115,04 \pm 5.14$ мг/100г) этих веществ в 2 раза больше, чем в водном ($655,47 \pm 10.28$ мг/100г) [199].

Исследование химического состава проводили методом ВЭЖХ-анализа. В настоящее время для анализа фенольных соединений широко применяются современные физико-химические методы, основными из которых является метод ВЭЖХ, которая позволяет оценивать не только качественный состав, но и количественное содержание отдельных компонентов. В создании ВЭЖХ приняли участие ряд ученых, но основную роль сыграли Ш. Хорват (США) и Дж. Кирклэнд (Великобритания), разработавшие независимо друг от друга основы метода ВЭЖХ, а Ш. Хорват создал первый высокоэффективный жидкостной хроматограф, предложил и развил ВЭЖХ с обращенной фазой. Ни один аналитический метод не может конкурировать по эффективности разделения сложных многокомпонентных систем, а также по универсальности и широте применения. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии имеет ряд преимуществ: обладает высокой селективностью сорбентов, чувствительностью и селективностью диодно-матричного, ультрафиолетового, флуоресцентного, масс-спектрометрического детекторов и мягкими температурными условиями анализа, при которых анализируемые вещества не разлагаются. Это послужило основой применения хроматографических методов в контроле производства растительного сырья: анализ исходного сырья, анализ продуктов на всех технологических стадиях, контроль качества растительных экстрактов, в том числе и установление их стабильности, сроков годности и условий хранения. Антрахиноны – класс полифенольных соединений, для определения которых используют ВЭЖХ.

Для хроматографического исследования антраценпроизводных мы использовали водно-этанольные извлечения из сырья корня ревеня, полученные методом экстракции на водяной бане. Для анализа проб использовали аналитическую ВЭЖХ-систему, состоящую из жидкостного хроматографа Agilent 1100, detector DAD, с использованием эмодаина, в качестве стандарта. Вещества идентифицировали методом сопоставления времени удерживания пиков веществ на хроматограммах анализируемых образцов (экстракта) со временами удерживания пиков стандартных образцов (эмодин).

Количественный анализ фенольных веществ методом спектрофотометрии в экстрактах корня и листьев ревеня проводили с помощью спектрофотометра «HALO VIS 10». Экстракт стандартных растворов кверцетина (0,2 г) с концентрацией 20-120 мг/л был смешан с 5% -ным раствором NaNO_2 (0,3 мл). Через 5 минут добавляли 10%-ный раствор AlCl_3 (0,3 мл), и оставляли данную смесь на 6 минут для инкубации. Затем добавляли раствор NaOH (2 мл). Данные растворы хорошо перемешивали и измеряли степень абсорбции с помощью спектрофотометра. По аналогичной методике был проведен количественный анализ фенолов (стандарт – галловая кислота). Оптическую плотность

измеряли в интервале 510 - 760 нм на длине волны максимума поглощения в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см. В рабочую кювету помещали раствор с добавленным хлоридом алюминия, в кювету сравнения – раствор сравнения [201-203].

Содержание суммы флавоноидов и фенолов в пересчете на кверцетин вели по формуле:
$$X = \frac{A_x \cdot C_{ст} \cdot W \cdot 100}{A_{ст} \cdot C_x \cdot V_a}$$
 (2.1.)

где A_x – оптическая плотность исследуемого раствора;

$C_{ст}$ – концентрация раствора стандартного образца кверцетина;

W – разведение, мл;

$A_{ст}$ – оптическая плотность раствора стандартного образца кверцетина;

C_x – концентрация исследуемого раствора;

V_a – объем аликвоты, мл.

В качестве стандартного образца использовали ГСО кверцетина и галловой кислоты [204].

2.3.3. Определение влияния экстракта корня *Rheum rhaponticum L.* на контроль патогенов семян сельскохозяйственных растений

Метод диффузии в агар-агар с использованием бумажных дисков был использован для изучения влияния биоактивных веществ экстракта корня ревеня на развитие грибных фитопатогенов рода *Fusarium* на культурах сои и кукурузы. Метод основан на способности БАВ диффундировать в агаровых средах с образованием зон отсутствия роста между патогеном рода *Fusarium* и диском, пропитанным БАВ. В стерильные чашки Петри помещали агар с суспензией определенного вида патогена рода *Fusarium* (*F. sporotrichiella*, *F. moniliforme*, *F. graminearum*), каждый в 4-кратной повторности. Толщина слоя среды в чашке Петри была 3–4 мм. В центре чашки располагали стерильный бумажный диск, пропитанный экстрактом корня ревеня в нескольких концентрациях. Разлив питательных сред в чашки и закладку бумажных дисков проводили в бактериологической камере (стерильном боксе). Раскладку дисков проводили на застывшую питательную среду пинцетом, периодически стерилизуя его обжиганием на спиртовке. В контрольных вариантах стерильные бумажные диски обрабатывали 2%-ным водно-этанольным раствором. После прорастания патогена на питательных средах, измеряли диаметры зон подавления роста патогена экстрактом корня ревеня и рассчитаны средние значения.

2.3.3.1. Определение влияния предпосевной обработки семян сои и кукурузы экстрактами *Rheum rhaponticum L.* на показатели прорастания

Применение для предпосевной обработки семян биоактивных веществ растительного экстракта способно значительно повлиять на процент прорастания, качество всходов, длину корешка и стебелька, вес проростков. Для исследований было необходимо выбрать оптимальную концентрацию экстракта, которая улучшает все эти параметры.

Анализ всхожести семян проводили в чашках Петри. Из семян культур кукурузы и сои отбирали четыре пробы по 25 семян в каждой. Для анализа применяли: термостат, обогреваемый с диапазоном температур от 20°C до 40°C; чашки Петри; увлажнители ложа (капельницы, пипетки, леечки); набор лабораторных луп; термометры со шкалой от 0°C до 40°C; пинцеты; препаровальные иглы; бумагу фильтровальную; воду водопроводную; воду дистиллированную; воду кипяченую; растворы растительных экстрактов в различных концентрациях и композициях; спирт этиловый 95%-ный.

Термостаты мыли горячей водой с моющими средствами и дезинфицировали 1%-ным раствором марганцовокислого калия или спиртом через каждые 10 дней. Один раз в месяц термостаты дезинфицировали спиртом. В рабочую камеру термостата ставили поддон с водой. Чашки Петри, используемые для приготовления ложа, мыли горячей водой с моющими средствами, ополаскивали 1%-ным раствором марганцовокислого калия, а затем водой. При проращивании семян на ложе из фильтровальной бумаги посуду перед употреблением дезинфицировали спиртом. Чашки Петри стерилизовали в сушильном шкафу при температуре 130°C в течение 1 ч или кипячением в воде в течение 40 мин. Нарезанную фильтровальную бумагу увлажняли непосредственно перед раскладкой семян на проращивание. Фильтровальную бумагу смачивали, опуская в воду и затем давая стечь избытку воды. Из увлажненного субстрата подготавливали ложе для проращивания. Вручную раскладывали на ложе семена на расстоянии не менее 0,5—1,5 см друг от друга в зависимости от их размеров. В каждую пробу семян помещали этикетку с указанием регистрационного номера средней пробы, номера проращиваемой пробы (повторности), дат учета энергии прорастания и всхожести.

Семена раскладывали на двух-трех слоях увлажненной бумаги в чашках Петри. Чашки Петри помещали для проращивания в термостаты. В термостатах поддерживали установленную температуру, проверяя ее три раза в день — утром, в середине дня и вечером; она не отклонялась более чем на $\pm 2^\circ\text{C}$. Проверяли состояние увлажненности ложа ежедневно, при необходимости смачивали его водой комнатной температуры, не допуская переувлажнения. Ежедневно на несколько секунд приоткрывали крышки чашек Петри, для обеспечения постоянной вентиляции в термостатах. Воду в поддоне на дне термостата меняли через каждые 3—5 суток.

Оценку и учет проросших семян при определении энергии прорастания для сои проводили через 3 дня, и всхожести – через 7 дней. Учет проросших семян при определении энергии прорастания для кукурузы проводили через 4 дня, и всхожести – через 7 дней (при необходимости продлевали срок проращивания на 3 дня). При этом день закладки семян на проращивание и день подсчета энергии прорастания или всхожести считали за одни сутки. К всхожим относили нормально проросшие семена. При учете энергии прорастания подсчитывали и удаляли только нормально проросшие и явно загнившие семена, а при учете всхожести отдельно подсчитывали нормально проросшие, набухшие, твердые, загнившие и ненормально проросшие семена. К числу нормально проросших семян относили семена, имеющие: хорошо развитые корешки (или главный зародышевый корешок), имеющие здоровый вид; хорошо развитые и неповрежденные подсемядольное колено (гипокотиль) и надсемядольное колено (эпикотиль) с нормальной верхушечной почечкой; две семядоли — у двудольных (соя); первичные листочки, занимающие не менее половины длины колеоптиля, — у злаковых (кукуруза).

У кукурузы, семена которой прорастают несколькими зародышевыми корешками, к числу нормально проросших относили семена, имеющие не менее двух нормально развитых корешков размером более длины семени и росток размером не менее половины его длины с просматривающимися первичными листочками, занимающими не менее половины длины колеоптиля. У сои, семена которой прорастают одним корешком, к числу нормально проросших относили семена, имеющие развитый главный зародышевый корешок размером более длины семени и сформировавшийся росток. К нормально проросшим семенам относят также проростки с небольшими дефектами: с незначительным поверхностным повреждением основных органов проростка, не затрагивающим проводящие ткани; с поврежденным главным зародышевым корешком, но с достаточно развитыми несколькими придаточными или боковыми корешками у кукурузы и сои; с одной семядолью или незначительным (не более 1/3) повреждением верхних частей обеих семядолей, без повреждения верхушечной почечки у сои; с нормально развитыми органами, но загнившими в местах соприкосновения с больными проростками или семенами (вторичное заражение).

К непроросшим семенам относили: набухшие семена, которые к моменту окончательного учета всхожести не проросли, но имели здоровый вид и при нажиме пинцетом не раздавливались; твердые семена, которые к установленному сроку определения всхожести не набухли и не изменили внешнего вида. К невсхожим семенам относили: загнившие семена с мягким разложившимся эндоспермом, почерневшим или

загнившим зародышем и проростки с частично или полностью загнившими корешками, семядолями, почечкой, гипокотилем, эпикотилем; ненормально проросшие семена, имеющие нарушения в развитии проростков [18-20].

Определение влияния экстрактов из корня и листьев *R. rhaponticum* на всхожесть и размеры проростков семян кукурузы и сои в лабораторных условиях проводили в указанных вариантах. Состав вариантов для сои, сорт “Надежда”: контроль – обработка водой; эталон – обработка фунгицидом Royal FLO 42 SL; V1 – 0,5% L; V2 – 1% L; V3 – 1% R; V4 – 3% R; V5 - 0,5% L + 0,5% R. Состав вариантов для кукурузы, гибрид «Pogumbeni 280»: контроль – обработка водой; эталон – обработка фунгицидом Royal FLO 42 SL; V1 – 0,5% L; V2 – 1% L; V3 – 1% R; V4 – 3% R; V5 – 1% L+1%R.

В дальнейших исследованиях были использованы рабочие растворы с экстрактом корня ревеня отдельно, и в сочетании с микроэлементами (Cu^{2+} и Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}), для предпосевной обработки семян однодольных и двудольных сельскохозяйственных культур. Наибольшего внимания заслуживают микроэлементы в хелатной форме (хелаты). Хелаты получают при взаимодействии металлов (микроэлементов) с природными или синтетическими органическими кислотами определенного строения. Получающиеся устойчивые соединения называют хелатами (от греч. «chele» — клешня) или комплексонатами. При взаимодействии с металлом органическая молекула, как бы, захватывает металл в «клешню», а мембрана клетки растения распознает этот комплекс как вещество, родственное своим биологическим структурам. Далее, ион металла усваивается растением, а комплексон распадается на более простые вещества. Основная идея применения комплексонов для улучшения растворимости питательных солей построена на том, что многие хелаты металлов имеют большую растворимость (иногда на порядок), чем соли неорганических кислот. Учитывая также, что в хелате металл находится в полуорганической форме, для которой характерна высокая биологическая активность в тканях растительного организма, можно получить удобрение, гораздо лучше усваиваемое растением. Самыми рациональными и экономически выгодными способами применения микроудобрений являются: предпосевная обработка семян (путем опыления или увлажнения); некорневая подкормка в течение вегетации (так называемый фолиарный, или листовой метод). В этих случаях растения используют от 40 до 100% всех микроэлементов, в то время как растения усваивают лишь несколько процентов (иногда, даже десятые доли процента) от внесенного в почву микроэлемента.

Примененные в опыте микроэлементы проявляют стимулирующее и фунгицидное действие на растения. Медь (Cu^{2+}) участвует в метаболизме белков и углеводов, активизирует

некоторые ферменты, участвует в фотосинтезе, необходима в азотном обмене. Бор (B^{3+}) участвует в синтезе РНК и ДНК, в образовании гормонов. Необходим для нормальной жизнедеятельности точек роста растения, т. е. самых молодых его частей. Он влияет на синтез витаминов, цветение и плодоношение, созревание семян. Цинк (Zn^{2+}) участвует в образовании триптофана, предшественника ауксина (гормона роста) и в синтезе протеинов. Необходим для преобразования и потребления крахмала и азота. Железо (Fe^{2+}) содержится в хлоропластах, является необходимым элементом многих ферментов. Участвует в важнейших биохимических процессах: в фотосинтезе и синтезе хлорофилла, метаболизме азота и серы, дыхании клетки, ее росте и делении. Магний (Mg^{2+}) входит в состав хлорофилла, активирует фермент, преобразующий углекислый газ при фотосинтезе.

Целью опыта было сравнение эффективности проверенного чистого экстракта в определенных концентрациях с композициями, содержащими уменьшенные концентрации экстракта корня в сочетании с микроэлементами (1:1). Было изучено влияние предпосевной обработки композициями на всхожесть семян и биометрические параметры проростков, исследованы 6 вариантов композиций в 4-х кратной повторности: V1 – 0,4% ($Cu^{2+} + R$); V2 – 1,0% ($Cu^{2+} + R$); V3 – 0,4% ($Zn^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, B^{3+} + R$); V4 – 1,0% ($Zn^{2+}, Fe^{2+}, Mg^{2+}, B^{3+} + R$); V5 – 0,4% R; V6 – 1,0% R; V7 – эталон (Royal FLO 42 SL); V8 – контроль - обработка водой. Методы определения всхожести семян соответствовали межгосударственному стандарту. Из семян культуры, отбирали четыре пробы по 40 семян в каждой, обрабатывали рабочим раствором композиций в течение 15 минут, раскладывали на двух-трех слоях увлажненной фильтровальной бумаги в чашки Петри и помещали для проращивания в термостат, повторность 4-х кратная. Семена проращивали при постоянной температуре 20°C, определение энергии прорастания проводили через 3 суток, всхожести – через 7-10 суток.

Выбрав, опытным путем, наиболее перспективные составы для предпосевной обработки, мы продолжили их изучение на тех же культурах методом мелкоделяночных опытов. Применялась обработка семян указанными составами в течение 15 минут, в трехкратной повторности (по 20 растений в каждой повторности).

Состав вариантов сои сорта «Надежда»: V1 – 0,5% L; V2 – 1% R; V3 – 0,5% L + 1% R. Состав вариантов кукурузы, гибрид «Pogumbeni 280»: контроль; эталон Royal Flo; V1 – 0,5% L; V2 – 3% R; V3 – 0,5% L + 3% R. Контрольные семена были обработаны водой. В качестве эталона был использован фунгицидный препарат Royal Flo. Продолжительность опыта 30 суток.

Для определения стимулирующего влияния предпосевной обработки семян сои и кукурузы были определены показатели всхожести и размеры растений. Данные были математически обработаны и представлены в таблицах. При постановке опыта для исследования фунгицидных свойств экстрактов ревеня был использован искусственный инфекционный фон. В вегетационные сосуды с почвой, в которую были внесены фитопатогены кукурузы (*F. moniliforme*, *F. graminearum*) и сои (*F. sporotrichiella*), мы посеяли семена, обработанные указанными составами в течение 15 минут, в трехкратной повторности. Продолжительность опыта 30 дней. По завершении эксперимента, растения извлекли из сосудов вместе с корневой системой и провели оценку в соответствие со шкалой интенсивности поражения корня и стебля (%). Исходя из полученных данных была определена биологическая эффективность предпосевной обработки экстрактами ревеня и оптимальный по составу и концентрации вариант.

Интенсивность, или степень, поражения растений (качественный показатель проявления болезни) определяли по площади пораженной поверхности органов растений или по интенсивности проявления симптомов заболевания (глазомерно). Для оценки степени поражения существуют различные условные шкалы. Оценочные шкалы строятся в зависимости от культуры, признаков проявления заболевания и назначения учета. Их применяют для определения эффективности средств защиты, а также для фитосанитарного контроля. Разработаны шкалы иллюстрационные, словесные, балльные и процентные, некоторые из них — многоступенчатые. Для оценки интенсивности поражения растений корневыми гнилями нами применялась 5-балльная шкала (СИММУТ):

- 0 – здоровое растение;
- 1 – поражение 1-9% органов;
- 2 – поражение 10-29% органов;
- 3 – поражение 30-69% органов;
- 4 – поражение 70-89% органов;
- 5 – поражение 90-99% органов [23, 25] (Рисунок 2.1).



Рис. 2.1. Степень поражения корневыми гнилями сои (а) и кукурузы (б)

Для фитопатологической оценки состояния растений применяли соответствующие методы определения интенсивности заболевания, или степени, поражения растений и биологическую эффективность применения защитных мероприятий (Формулы 2.2. – 2.5.).

2.3.3.2. Определение биологической эффективности экстракта из корня *Rheum rharonticum* L. для контроля мучнистой росы на культурах *Cucurbitaceae*

В последние годы в большинстве хозяйств заболевание культур мучнистой росой стало практически неуправляемым, особенно там, где есть культура огурца. Основным возбудителем мучнистой росы огурца в теплицах Республики Молдова является *Sphaerotheca fuliginea* Poll. Возбудитель мучнистой росы отличается высокой генетической адаптивностью к применяемым химическим фунгицидным препаратам. Так, препараты на основе стробилуранов (Квадрис, Строби) теряют свою эффективность после 2-3 обработок. Серосодержащие препараты (Кумулус, Тиовит), вследствие повышенной фитотоксичности, вызывают очень быстрое старение растений и гибель листьев. Хозяйства ощущают острую потребность в фунгицидах различной природы для борьбы с мучнистой росой.

Идентификацию возбудителей мучнистой росы тыквенных культур на основе конидиальной стадии проводили в соответствии с работами Соколова Ю. В. (2007) который

доказал, что такая идентификация видов мучнистой росы носит достоверный характер. Его исследования по идентификации возбудителей мучнистой росы на тыквенных культурах, выполнены в соответствии с методиками, изложенными в работах К. Hirata (1942, 1955, 1956). По комплексу исследованных признаков, конидии *S. fuliginea* достоверно отличаются от конидий *E. cichoracearum*. Свежие конидии *E. cichoracearum* имеют цилиндрическую форму, располагаются на конидиофорах цепочками, начинают прорастать через 2,5 часа после отделения от конидиеносца. Проросток простого типа появляется с угла. Свежие конидии *S. fuliginea* эллиптической формы, вакуоли содержат включения в виде мелких, различной формы фиброзных телец. Конидии располагаются на конидиофорах цепочками, начинают прорастать спустя более чем 10 часов после отделения от конидиофор, ближе к середине широкой стороны булавовидным или вилообразным проростком [205].

Объект наших исследований *S. fuliginea*, относится к группе болезней относительно устойчиво распространенных и проявляющих вредоносность в зависимости от складывающейся климатической обстановки. Не обладая способностью размножаться вне живого растения, *S. fuliginea* требует специальных методик исследования. Оценка эффективности экстрактов *R. rhaponticum*, в условиях закрытого грунта, была проведена против *S. fuliginea* на рассаде овощных культур *Cucurbitaceae*. Используемая нами методика представлена в патентах фирмы Marrone Bio Innovations Incorporation. Семена тыквенных культур были высеяны в теплице в пластиковых емкостях с почвенной смесью. На стадии 4-х настоящих листьев рассада была обработана экстрактом корня ревеня. Контрольные растения не обрабатывались. Для того, чтобы определить профилактический и лечебный эффект экстракта корня ревеня, растения обрабатывались однократно в различных интервалах времени (за 72 и 4 часа) до заражения. Суспензия конидий *S. fuliginea*, возбудителя мучнистой росы на огурцах, была подготовлена заранее путем отделения больных листьев растения огурца и смыва конидий в емкости с водой. С помощью микроскопа водная суспензия была скорректирована до $2,0 \times 10^5$ конидий на мл и наносилась на поверхность листьев, методом опрыскивания, из расчета 2 мл раствора на одно растение. Инфицированные растения помещали в рандомизированных блоках теплицы, в 3-4-кратной повторности при температуре 23-27°C [21-23]. В качестве эталона был использован экологически безопасный препарат Рекол (5%), фунгицид на основе экстракта *Reynoutria sachalinensis* L., сем. *Polygonaceae*, зарегистрированный в Молдове. Мицелий мучнисторосных грибов является поверхностным и разрастается на поверхности

листьев и побегов, образуя налет белесого цвета. Степень заболевания (в баллах площадей, покрытых колониями) листа оценивали в соответствии со стандартной методикой [23-26].

Оценка эффективности композиции экстракта корня *R. rhaponticum* с микроэлементами в условиях закрытого грунта была проведена, по описанной методике, против *S. fuliginea* на рассаде овощных культур *Cucurbitaceae*. Известно, что растения могут поглощать элементы не только корневой системой, но и листовой поверхностью. Поглощающая сила листьев, даже при хорошем обеспечении водой, равна 2 атм., а в жаркую погоду она повышается до 4-5 атм. Поэтому, при обработке растений раствором минеральных удобрений листья быстро впитывают их. Обработка листовой поверхности растений раствором макро- и микроэлементов увеличивает синтетическую деятельность растений. Своевременное применение внекорневой подкормки позволяет значительно уменьшить стрессы растений от природных аномалий погоды (низкая температура, заморозки), приспособливает их к окружающей среде, активизирует корневое питание, замедляет старение растения и создает условия для получения высокого и качественного урожая.

Состав композиций для обработки рассады 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; V7 – эталон Рекол, 5%; V8 – контроль без обработки.

Целью этого опыта было сравнение эффективности чистого экстракта в эффективных концентрациях с композициями, состоящими из концентраций экстракта корня *R. rhaponticum*, уменьшенных вдвое, в сочетании с микроэлементами (1:1), усиливающими фунгицидные (Cu^{2+}) и фитостимулирующие (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) свойства экстракта. Дозы микроэлементов малы, в сравнении с их долей в общепринятых фунгицидных растворах (медный купорос – 10 г/1 литр). В одном литре нашего рабочего раствора было около 0,3 мг Cu^{2+} ; 0,1 мг микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}); 2 мл спирта (0,2%).

Оценка влияния обработки рассады огурца (*Cucumis sativus*) сорта «Родничок» композициями экстрактов корня и листьев ревеня для защиты от мучнистой росы были проведены в закрытом грунте по вышеизложенной методике. Общеизвестно, что в листьях представителей рода *Rheum* накапливается значительное количество щавелевой кислоты и ее солей (до 1%). В отличие от химических пестицидов, щавелевая кислота безвредна. Она используется в медицине, пищевой промышленности и сельском хозяйстве. Известно, что проведение опрыскивания и полива растений водным раствором щавелевой кислоты и/или

ее кальциевых и/или магниевых солей в течение всего периода вегетации, вызывает модификацию развития растения в нескольких направлениях, одновременно:

- усиление устойчивости к неблагоприятным факторам среды,
- изменение формы растений, повышение их декоративных свойств,
- замедления процесса старения растений, подавления в почве и на растении развития вредных и нежелательных организмов,
- ликвидации отпада цветков и завязей овощных растений [165]. Все вышеизложенное дает основание для использования экстракта листьев в целях оптимизации действия экстракта корня ревеня.

Опыты по изучению влияния обработки экстрактами корня и листьев ревеня были проведены с целью защиты рассады огурца сорта «Родничок» от мучнистой росы в закрытом грунте. Рассада огурца, 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; V9 – эталон Рекол (5%); V10 – контроль без обработки. Обработанные экстрактами ревеня растения через 72 и 4 часа инфицировали возбудителем мучнистой росы (однократно).

Опыты по изучению влияния обработки композициями на основе экстрактов *Rheum* на развитие мучнистой росы были продолжены на взрослых растениях огурца в условиях закрытого грунта на естественном инфекционном фоне. После появления первых признаков мучнистой росы, все растения огурца были обработаны в 3-х кратной повторности следующими составами:

1) V1 – 1% (Cu^{2+} + R); V2 – 0,5% (Cu^{2+} + R); V3 – 1% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V4 – 0,5% (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} + R); V5 – 1% R; V6 – 2% R; V7 – эталон Рекол (5%); V8 – контроль без обработки. .

2) V1 – 1% R; V2 – 2% R; V3 – 3% R; V4 – 1% L; V5 – 5% L; V6 – 1% R + 1% L; V7 – 2% R + 5% L; V8 – эталон Рекол (5%); V9 – контроль без обработки. Обработки проводили в течение месяца (каждые 7 дней). Проводили учеты интенсивности заражения и развития болезни растений.

Распространенность болезни (количество больных растений или его отдельных органов (листьев) по отношению ко всем учтенным растениям, выраженное в процентах (Формула 2.3, 2.4). Интенсивность, или степень, поражения растений определяли по площади пораженной поверхности органов растений или по интенсивности проявления симптомов заболевания (глазомерно) [25] (Рисунок 2.2).

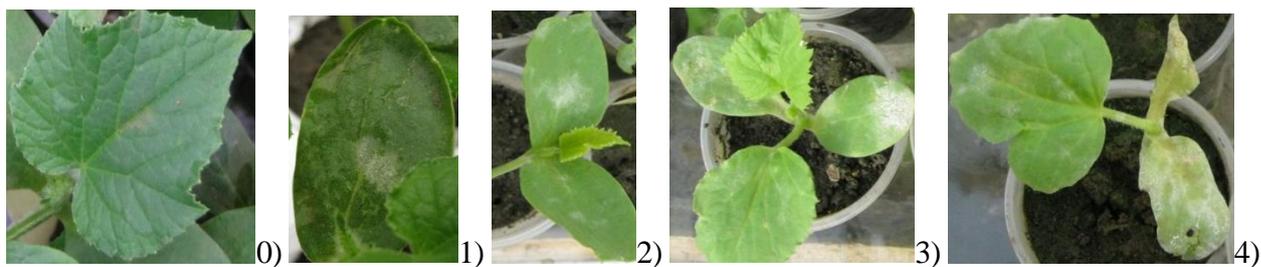


Рис. 2.2. Интенсивность развития болезни на листьях. 0 – признаки поражения отсутствуют, 1 – поражено до 10%, 2 – до 25%, 3 – до 50%, 4 – свыше 50% листовой поверхности

Для оценки проявления мучнистой росы применяли комбинированную процентно-балльную шкалу (СИММУТ):

- 0 — отсутствие поражения;
- 1 — поражено до 10% поверхности;
- 2 — от 11 до 25%;
- 3 — от 26 до 50%;
- 4 — свыше 50% поверхности.

Такая шкала составлена в соответствии со следующими группами интенсивности поражения в баллах: 1 — 2 — депрессия болезни; 3 — умеренное развитие; 4 — эпифитотия

Форма записи результатов учета – таблица. Степень развития, распространенность болезни и биологическая эффективность защитных мероприятий рассчитывалась по стандартным формулам [24-26]. Для оценки фитосанитарного состояния растений рассчитывают следующие показатели:

Развитие болезни

$R = \sum(a \times b) \div N$, где R — развитие болезни, % или баллов; $\sum(a \times b)$ — сумма произведений числа больных растений (a) на соответствующий им процент или балл поражения (b); N — общее количество растений в пробе, шт. (2.2.)

Распространенность – это количество больных растений в процентах от общего числа обследованных на площади участка. Распространенность (P, %) вычислялась после подсчета больных и здоровых растений в пробе по формуле

$$P = \frac{100n}{N}, \text{ где } n \text{ – число больных растений в пробе; } \quad (2.3.)$$

N — общее число обследованных растений в пробе.

При проведении учета степени поражения растений по балльной шкале при равномерной цене деления шкалы между ступенями перевод из балльной оценки

в процентную проводят по формуле, в которую введен показатель k — высший балл шкалы учета. Такая формула имеет следующий вид: $Pa = ab \cdot 100 / Hk$ (2.4.)

остальные обозначения показателей те же, что и в предыдущей формуле.

Биологическую эффективность защитных мероприятий оценивали, сопоставляя пораженность растений на обработанных и контрольных растениях. Разницу в пораженности контрольных и обработанных растений (Эб,%) определяют по формуле

$$\text{Эб} = \frac{100 (B_k - B_0)}{B_k}, \text{ где} \quad (2.5.)$$

B_k - показатель распространенности или развития болезни на контрольном участке;

B_0 — аналогичный показатель на опытном участке.

Математическая обработка и оценка достоверности полученных научных данных проведена с использованием платформы ABC Pascal [28-30].

2.3.3.3. Определение фитостимулирующей активности экстракта

В процессе применения определенных концентраций экстракта корня ревеня, в опытах с рассадой растений *Cucurbitaceae* в теплице, были отмечены изменения размера и интенсивности зеленой окраски обработанных листовых пластинок, по сравнению с контрольными. В целях определения фитостимулирующей активности экстракта, при помощи прибора CM 1000 Chlorophyll Meter, был измерен индекс пропускания хлорофилла листьев (относительные единицы).

2.3.3.4. Определение инсектицидной активности экстрактов корня, листьев и соцветий *Rheum rharonticum* L. для контроля вредителей сельскохозяйственных культур

Как уже было отмечено, экстракты корня, листьев и соцветий ревеня являются источником разнообразных биологически активных веществ, таких как эмодин, кверцетин и щавелевая кислота. Важной природной функцией фенолов (эмодина) в посредничестве взаимодействия растение-животное является фактор сдерживания питания. Эмодин обладает детеррентным эффектом на большой спектр беспозвоночных организмов, ингибирует действие кишечных ферментов (α -амилазы и протеиназы) насекомых — вредителей запаса [101]. В относительно низких концентрациях, эмодин сокращает питание и удлиняет сроки развития личинки непарного шелкопряда, а в высоких концентрациях — вызывает выраженную смертность. Известно, что действие комплекса рутина и кверцетина ингибирует развитие и увеличивает смертность непарного шелкопряда, а также влияет на увеличение смертности табачной совки [103-104]. На основе щавелевой кислоты и оксалатов уже созданы селективные инсектицидные средства. Однако, механизмы действия

всех этих веществ, в качестве инсектицидов, все еще находятся в процессе изучения. Определение биологической эффективности экстрактов *R. rhaponticum* для контроля вредителей сельскохозяйственных культур проводили в лабораторных условиях (Рисунок 2.3).



Рис. 2.3. Вредители сельскохозяйственных культур. а – бобовая тля (*Aphis fabae* Scop.), б – зеленая яблонная тля (*Aphis pomi* Degeer.), в – злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rondani.)

На листьях щавната, яблони и пшеницы были собраны образцы *Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop. и *Schizaphis graminum* Rondani. Листовые пластинки, заселенные вредителем, помещали в чашки Петри в 4-кратной повторности для каждого варианта. Образцы обрабатывали рабочими растворами экстрактов и, в последующие дни, проводили учеты погибших особей. Были проведены многочисленные исследования инсектицидного действия экстрактов листьев, соцветий и корня ревеня в разных концентрациях и комбинациях, в 4-х кратной повторности. В финальных опытах использовали следующий состав вариантов: V1 – 5% R; V2 – 5% L; V3 – 5% F. Контрольные образцы не обрабатывали. В качестве эталона был использован 1%-ный раствор экологически безопасного инсектицида Pelecol.

Были проведены многочисленные опыты по определению влияния экстрактов корня и листьев ревеня на контроль вредителя запасов – зерновой моли (*S. cerealella*). В финальном опыте в чашки Петри были помещены по 100 зерен ячменя, которые были обработаны экстрактами корня и листьев ревеня, в 4-х повторностях, в различных вариантах: V1 – 20% R; V2 – 80% R; V3 – 20% L; V4 – 20% L + 20% R. В качестве эталона с экологическим действием был использован препарат Pelecol (1%). Контрольные семена обрабатывались 1%-ным водно-этанольным раствором. Затем зерна ячменя были инфицированы равными навесками яиц вредителя запасов *S. cerealella* и помещены в термостат. Итоговый учет был проведен через месяц. Было определено количество отрожденных из яиц особей вредителя.

Расчет биологической эффективности инсектицидов. При определении биологической эффективности по смертности вредителя учитывали численность вредителей во всех вариантах и в 4-кратной повторности до и на определенные дни после проведения обработки. Затем вычисляли процент смертности по каждой повторности, а также средний процент по каждому варианту. Биологическую эффективность определяли при сопоставлении с контролем по формуле:

$$C = C_1 - C_2 = \frac{100 \cdot B}{A} - \frac{100 \cdot b}{a}, \text{ где} \quad (2.6)$$

C – смертность вредителя с поправкой на контроль, %;

C_1 и C_2 – соответственно смертность вредителя в варианте с обработкой и в контроле, %;

A и a – соответственно общее число особей в обработанном и контрольном варианте, шт.;

B и b – соответственно число погибших особей в обработанном варианте и на контроле, шт.

Для построения графических материалов использовали пакет программ Microsoft Office Excel. Математическая обработка и оценка достоверности полученных научных данных проведена с использованием платформы ABC Pascal [28-30].

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

В результате проведенных исследований на опытном участке были отработаны методы культивирования ревеня рассадным и семенным способами с использованием капельного орошения. Для получения качественного растительного сырья были проведены исследования состояния и фаз развития ревеня, выращиваемого на опытном участке института, его восприимчивость к болезням и вредителям. Также, проведена серия опытов по оптимизации размножения различных видов ревеня (Рисунок 3.1).



а)



б)



в)



г)

Рис. 3.1. Фазы развития и размножения ревеня различных видов на опытных участках института: а – рассада *Rheum palmatum* Maxim., б – плантация *Rheum compactum* L., в – соцветия *Rheum rharonticum* L., г – соплодия *Rheum rharonticum* L.

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

В процессе фенологических наблюдений было отмечено, что ревень является многолетним морозоустойчивым и влаголюбивым растением. В разные фазы развития растения предъявляли различные требования к свету. Так было установлено, что при выращивании рассады из семян, растения лучше развивались при хорошей освещенности и капельном поливе. В дальнейшем, когда в корневищах накапливался достаточный запас питательных веществ, требовательность к свету снижалась, и растения могли переносить затенения и засушливую погоду, однако процесс цветения происходил обильнее на солнечных участках. Лучше всего ревень развивался при хорошем освещении и капельном орошении, на открытых участках. Теневыносливость листьев ревеня позволяет его использовать в качестве «живой мульчи» под многолетними культурами (фруктовыми деревьями) и мульчировать его листьями культурные растения (рододендрон, голубика, брусника, клюква), для которых благоприятны кисловатые почвы [206]. Таким образом, отходы хозяйственного выращивания ревеня (листья) могут быть использованы в защите растений для регуляции насыщенности агроценоза сорняками, повышения антифитопатогенного потенциала почвы и снижения вирулентности возбудителей болезней.

Было установлено, что при недостатке влаги и пониженной (ниже 10⁰С) или высокой (выше 30⁰С) температуре листовая розетка разрастается слабо. Это объясняется тем, что корневая система ревеня не уходит глубоко в почву, а испаряющая поверхность листьев очень велика, причем, пластинка листа гладкая и не приспособлена к экономному расходу воды. Поэтому для получения большой массы растительного сырья необходимо поддерживать оптимальную влажность почвы. Листья у ревеня начинают отрастать, как только сойдет снег, легко переносят весенние заморозки и снегопады (апрель 2017 года).

Для закладки плантации ревеня опытный участок готовили заранее: освободили его от многолетних сорняков, сделали глубокую перекопку, внесли в почву органические удобрения (компост, перегной) до 10-15 кг на 1 м², установили капельное орошение. Перед посевом проводили обработку семян различными комплексами микроорганизмов для определения оптимального способа увеличения всхожести. Результаты опытов представлены ниже.

Посадочный материал ревеня получали двумя способами – выращивая рассаду из семян или путем вегетативного размножения. При первом способе, семена высевали для получения рассады (рассадный способ). Сухие семена ревеня всходят долго и

неравномерно, в течение 16-20 суток. Поэтому, перед посевом семена замачивали в воде. В случае, если семена ревеня старше 5-летнего возраста и плохо всходят, использовали для предпосевной обработки биологические препараты Gliocladin-SC и Trichodermin-SC, значительно увеличивающие всхожесть [207]. Посев проводили в марте-мае узкорядным способом на грядах с междурядьями 35 см трехстрочной лентой или двухстрочной по схеме 20 см + 50 см. В ряду семена располагали на расстоянии 4-6 см. Норма высева семян 2-4 кг/га. Глубина заделки 2-3 см. Излишнее заглубление приводило к загниванию и гибели проростка. Семена всходили на 8-12 день. Механизированный посев был затруднен из-за крылаток на семенах, поэтому высевали семена вручную. При прореживании всходов и в конце лета делали выбраковку, удаляя слабые растения с нетипичной для вида окраской черешка, давшие уже в год посева генеративный побег. Хорошо подготовленная рассада имела 3-4 развитых листа (красная окраска всего черешка) и стержневой корень. Выбраковывали рассаду со светло-желтыми черешками (не менее 20%). С 1 м² полезной площади гряд получали 80-100 шт. рассады (рассады 9-12 тыс. растений/1га). Для посадки 1 га плантации ревеня требуется 600 м² рассадника, на что необходимо 3 кг семян.

При делении куста (вегетативное размножение), однородный, соответствующий сорту посадочный материал получали путем деления типичных для сорта кустов в возрасте 3-4 лет. Этот способ более простой и способствует сохранению определенных сортов ревеня. Деление куста и посадку проводили рано весной, чтобы растения успели хорошо укорениться до наступления зимы. Растения делили таким образом, чтобы каждая часть имела 1-2 крупные почки и небольшой кусок здорового корневища. Предпочтение отдавали почкам, расположенным по периферии куста. Центральные – более слабые и, как показал опыт, чаще дают растения, склонные к цветению. Посадку проводили таким образом, чтобы верхушечные почки были на уровне почвы, а почки корневищ покрыты слоем земли в 1-2 см. Излишнее заглубление приводило к загниванию и гибели растения. В посадочные лунки вносили перегной и обильно поливали. Рассаду ревеня или саженцы от старых кустов высаживали квадратно-гнездовым способом по схеме: от 70x70 см, до 120x120 см, по два растения в гнездо. Густота стояния 6-9 тыс. растений/1га.

Уход за плантацией проводили в течение всего периода вегетации – рыхление междурядий, прополка, полив. В процессе вегетации проводили сбор урожая семян, черешков, корней и листьев. Поскольку опыление цветков ревеня происходит ветром и насекомыми, между сортами была обеспечена пространственная изоляция. Ревень – отличный медонос, поэтому на цветках мы наблюдали множество пчёл – опылителей.

Урожайность семян молодой плантации 2,5 ц/га. Свежеубранные семена ревеня обладали высокой всхожестью – 87%. Всхожесть семян сохранялась в течение 3-4 лет и составляла на 4-й год хранения 50% от первоначальной. Семенная продуктивность одного растения зависела от сортовых особенностей, уровня агротехнологии, погодных условий конкретного года, уровня повреждения вредителями, формирования количества побегов на семенном кусте и составила в среднем 38 г. Один гектар семенного участка обеспечивал закладку приблизительно 30 га промышленных плантаций. Убирали семенники при побурении цветоносов и дозаривали в помещении. Зрелые семена ревеня склонны к осыпанию.

Урожайность черешков и листьев ревеня в первые годы составляла 3,9 т/га. С наступлением фазы цветения рост новых листьев почти прекращался, а черешки и листья грубели и в них накапливалась щавелевая кислота, которая снижала питательную ценность растения и интерес вредителей к растению. После созревания семян, в середине июля, начинался вторичный рост листьев, что давало дополнительный урожай черешков и листьев. Таким образом, садоводы могут делать два среза (весенний и летний) для сбора урожая ревеня.

Урожайность воздушно-сухих корней ревеня составляла 1,7 ц/га от 3-х летних растений и 2,2 ц/га от 5-летних растений. Корневая система у ревеня темно-коричневого цвета, состоит из очень толстого разветвленного и мощного корня. Полученная масса воздушно-сухого корня ревеня 3-х летнего возраста, в среднем значении, составила 280 г, а 5-и летнего – 360 г. Корни, старше 3-х летнего возраста, заготавливали осенью и весной, в соответствии с инструкцией по сбору и сушке данного вида сырья [16]. Основную часть корня использовали для получения экстракта, а верхнюю часть с вегетативными почками срезали и высаживали снова на участок (вегетативное размножение).

Выкопанные корни отряхивали от земли, очищали от надземных частей и сразу мыли в холодной воде. Крупные корни после обсыхания разрезали и удаляли поврежденные и отмершие части. Сушку производили, раскладывая сырье в помещении с хорошей вентиляцией тонким слоем на бумаге или ткани, при периодическом переворачивании, до состояния ломкости. Потеря в массе при высушивании была не более 12%, экстрактивных веществ – не менее 33%, содержание фенолов – не менее 2,4%. Хранили сырье в сухих проветриваемых помещениях, упакованное в бумажные или тканевые мешочки. Срок годности сырья, в соответствии с ГОСТ, 5 лет [14-17].

Фенологические наблюдения за развитием растений рода *Rheum*, их болезнями и вредителями, позволили выявить основных вредителей, представляющих угрозу для выращивания рассады ревеня на опытном участке (Рисунок 3.2).

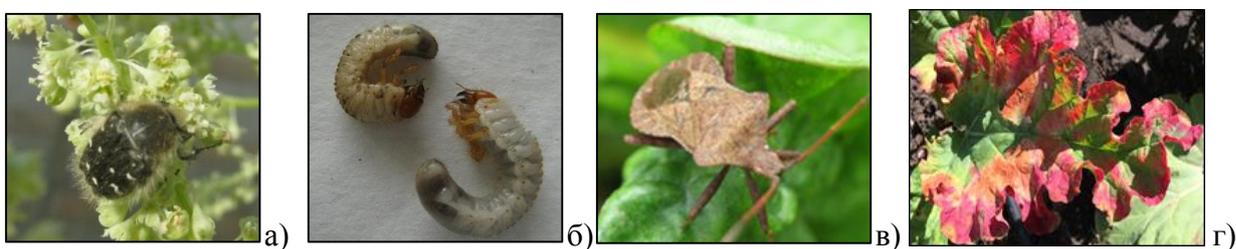


Рис. 3.2. Вредители и болезни ревеня на опытных участках института:
а – имаго олёнки мохнатой (*Epicometis hirta* Poda., сем. *Scarabaeidae*), **б** – личинки хруща майского (род *Melolontha*, сем. *Scarabaeidae*), **в** – ревеневый клоп (*Coreus marginatus* L. сем. *Coreidae*), **г** – аскохитоз (*Ascochyta rhei* Ell. et Ev., сем. *Didymellaceae*)

Аскохитоз (*Ascochyta rhei* Ell. et Ev., сем. *Didymellaceae*) образует на листьях ревеня кирпично-охряные пятна неправильной формы. Ткани на этих местах растрескиваются, усыхают и крошатся. Инфекция была нами уничтожена путем обработки листьев ревеня экстрактом корня ревеня.

Было отмечено, что молодые корешки рассады ревеня подгрызает личинка хруща майского (род *Melolontha*, сем. *Scarabaeidae*). Во избежание повреждения корней, мы использовали высадку на опытном участке окрепшей одно-двух-летней рассады, вместо семян. На цветках ревеня наблюдалось присутствие жука оленки (*Epicometis hirta* Poda., сем. *Scarabaeidae*), но ее вредоносность была незначительной. На листьях и соцветиях встречался ревеневый клоп (*Coreus marginatus* L., сем. *Coreidae*). Единичные случаи повреждения листьев не наносили ущерба растению, а к середине лета, когда количество кислоты и фенолов в листьях увеличилось, ревень становился непривлекательным для насекомых. Нами было отмечено, что растения вида *R. rhaponticum* за 5 лет произрастания на опытном участке, не требовали защиты от болезней и вредителей.

Борьба с сорняками на участке ревеня необходима перед посадкой. Можно использовать между растениями и в рядах различные виды мульчи (пленка, солома). В первые годы выращивания в междурядьях ревеня можно возделывать скороспелые культуры-уплотнители – редис, салат, шпинат, фасоль, кольраби. Взрослые растения ревеня сами являются зеленой мульчей. Ревень, по результатам исследований его биологических свойств, мы относим к аллелопатически активным растениям, способным синтезировать и выделять физиологически активные вещества, создавая при этом условия для накопления

их в среде [24-26]. Благодаря биохимической активности корней и раскидистой розетке крупных листьев, ревень способен подавлять сорняки и удерживать влагу в почве. Разведение культурных сортов, таких как *R. rhaponticum*, с большим аллелопатическим потенциалом, может способствовать лучшей устойчивости агроценоза к биотическим и абиотическим стрессам в период климатических изменений.

Таким образом, нами было доказано, что в климатических условиях Республики Молдова выращивание ревеня отличается простой агротехникой, окупается сбором урожая черешков и семян, не нуждается в системе защиты от вредителей и болезней и может обеспечить достаточное количество сырья для приготовления необходимого количества экстрактов.

3.2. Способы оптимизации технологии выращивания растений рода *Rheum*

Для получения экологически безопасного и качественного растительного сырья ревеня, были использованы биологические методы агротехники. Опыты по увеличению всхожести и устойчивости к болезням семян *R. rhaponticum* и *R. palmatum* var. *tanguticum* были проведены с использованием микробиологических препаратов на основе штаммов микроорганизмов-антагонистов почвенных патогенов. Разработаны микробиологические суспензии и их композиции для предпосевной обработки семян *R. rhaponticum*, хранившихся дольше 5 лет. Применяли метод замачивания, после чего семена помещали в чашки Петри для проращивания. В контроле – обработка семян водой.

В результате было выявлено, что суспензии бактерий и их композиции – *Azotobacter chroococcum* Beijerinck, *Agrobacterium radiobacter* Young et al., *Pseudomonas fluorescens* Migula, *A. chroococcum* + *B. subtilis* Cohn. (2:1), *A. chroococcum* + *P. fluorescens* (1:1) в различной степени ингибировали всхожесть семян и размеры проростков *R. rhaponticum*, в сравнении с контролем. Бактериальная суспензия *B. subtilis* и грибной биопрепарат Trichodermin-SC в концентрации 5% (продуцент – гриб *T. lignorum*) увеличили схожесть семян ревеня на 3,4%, в сравнении с контролем (Рисунок 3.3).

В результате проведенного анализа, было отмечено, что длина проростков была максимальной при обработке семян биопрепаратом Trichodermin-SC, и составила 4,2 см, в то время, как при обработке суспензией *B. subtilis* длина проростков была меньше на 14,3% и составила 3,6 см. В остальных вариантах показатели были сопоставимы с контрольными значениями (2,3 см) (Рисунок 3.4).

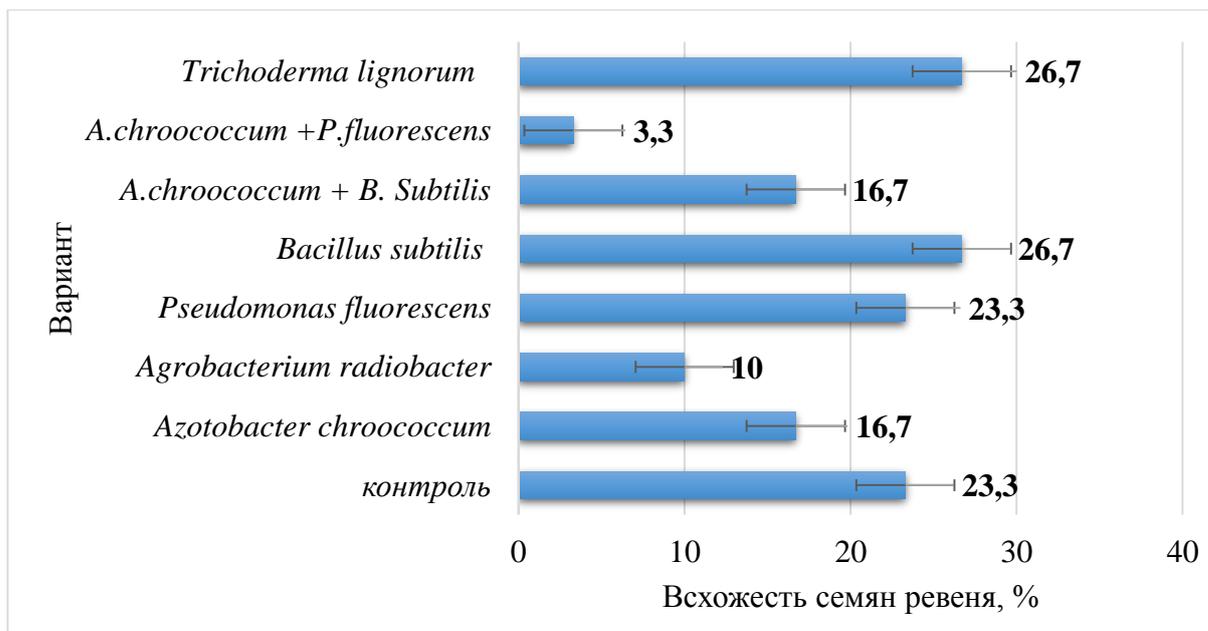


Рис. 3.3. Влияние предпосевной обработки семян *R. rhaponticum* L. микробиологическими суспензиями на всхожесть

Проведя анализ влияния предпосевной обработки семян на размеры проростков, было отмечено, что обработка суспензией *B. subtilis* незначительно повлияла на биометрические показатели прорастания семян ревеня в сравнении с контролем.

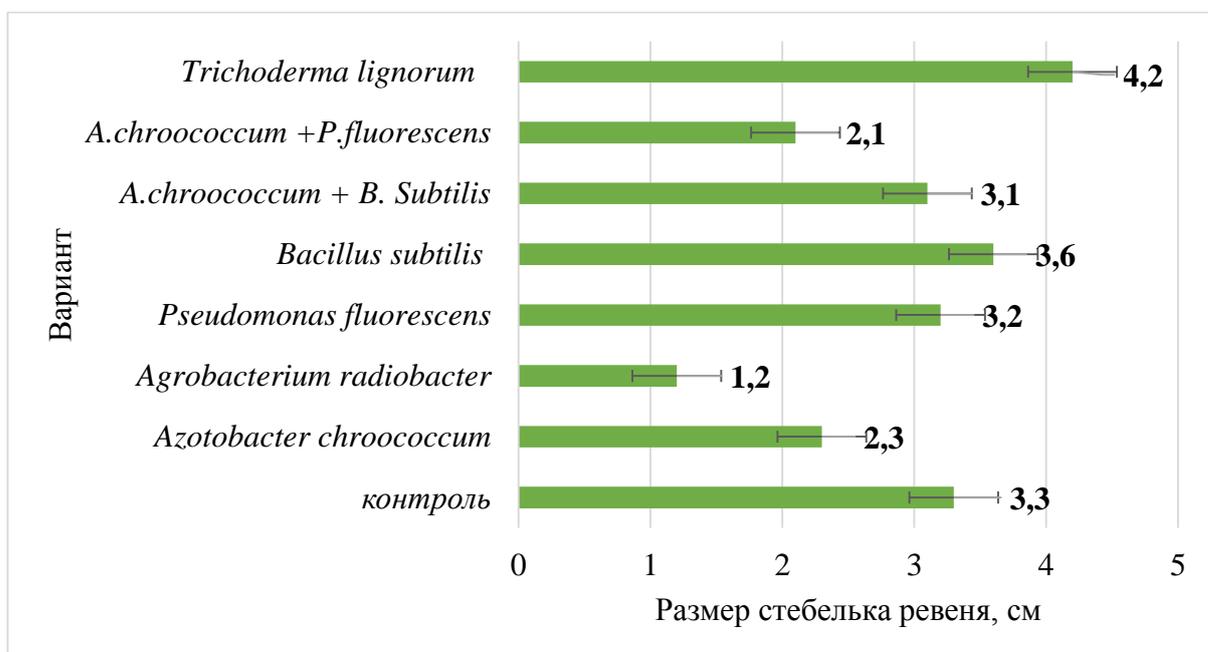


Рис. 3.4. Влияние предпосевной обработки семян *R. rhaponticum* L. микробиологическими суспензиями на размер проростков

В то время, как при обработке семян биопрепаратом Trichodermin-SC, длина проростков превышала контрольные размеры на 21,4%. Таким образом, было доказано, что препарат Trichodermin-SC стимулировал всхожесть семян ревеня с низкой всхожестью на 3,4% и размеры проростка на 21,4%, в сравнении с контролем.

Полученные результаты соотносятся с утверждениями, что грибы рода *Trichoderma* оказывают прямое фитостимулирующее действие на семена растений, быстро теряющих всхожесть, за счет синтеза специфических соединений. Для уточнения результатов эксперимента и определения оптимальной концентрации биопрепарата Trichodermin-SC для предпосевной обработки семян *R. rhaponticum*, в последующих опытах использовали водные суспензии препарата в концентрациях 2%, 5% и 10%. Обработывали семена ревеня различных видов последнего года сбора.

Экспериментально было доказано, что при обработке семян ревеня препаратом Trichodermin-SC в концентрации 10% была достигнута стимуляция всхожести на 10% и некоторое увеличение размеров корешка и стебелька, в сравнении с контролем. Таким образом, мы получили возможность оптимизировать технологию размножения *R. rhaponticum*, используя метод предпосевной обработки семян с низкой всхожестью, биопрепаратом Trichodermin-SC (Таблица 3.1).

Таблица 3.1. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. биопрепаратом Trichodermin-SC на всхожесть и биометрические параметры проростков

Вариант	Всхожесть, %	Длина корешка, см	Длина стебелька, см
Контроль	85,0	4,1	2,2
Эталон Recol, 5%	86,6	3,3	2,2
Trichodermin-SC, 2%	85,0	3,9	1,9
Trichodermin-SC, 5%	91,5	3,7	2,4
Trichodermin-SC, 10%	95,0	4,2	2,6
НСР _{0,05}	4,7	0,6	0,3

Применив предпосевную обработку биопрепаратом Trichodermin-SC к семенам китайского вида ревеня (*R. palmatum* var. *tanguticum* Maxim.), мы смогли повысить их всхожесть на 16,7%, по сравнению с контролем. Однако наблюдалось значительное ингибирование биометрических показателей проростков, по сравнению с контролем (Таблица 3.2).

Таблица 3.2. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum palmatum* Maxim. на всхожесть и биометрические показатели проростков

Вариант	Всхожесть, %	Длина корешка, см	Длина стебелька, см
Контроль	70,0	4,1	2,7
Эталон Recol, 5%	86,7	3,6	2,3
Trichodermin-SC, 5%	86,7	3,2	1,8
НСР _{0,05}	11,04	0,5	0,2

На следующем этапе исследований было проведено сравнение лабораторной всхожести семян *Rheum* и полевой. Для предпосевной обработки семян ревеня был использован препарат Gliocladin-SC (произцент – гриб *Trichoderma virens*). Обработанные препаратом семена *R. rhaponticum* были высеяны, как в паллеты (рассада), так и в открытый грунт на опытной делянке (30 м²), с учетом рандомизации. В контроле – обработка семян водой (Рисунки 3.5, 3.6).

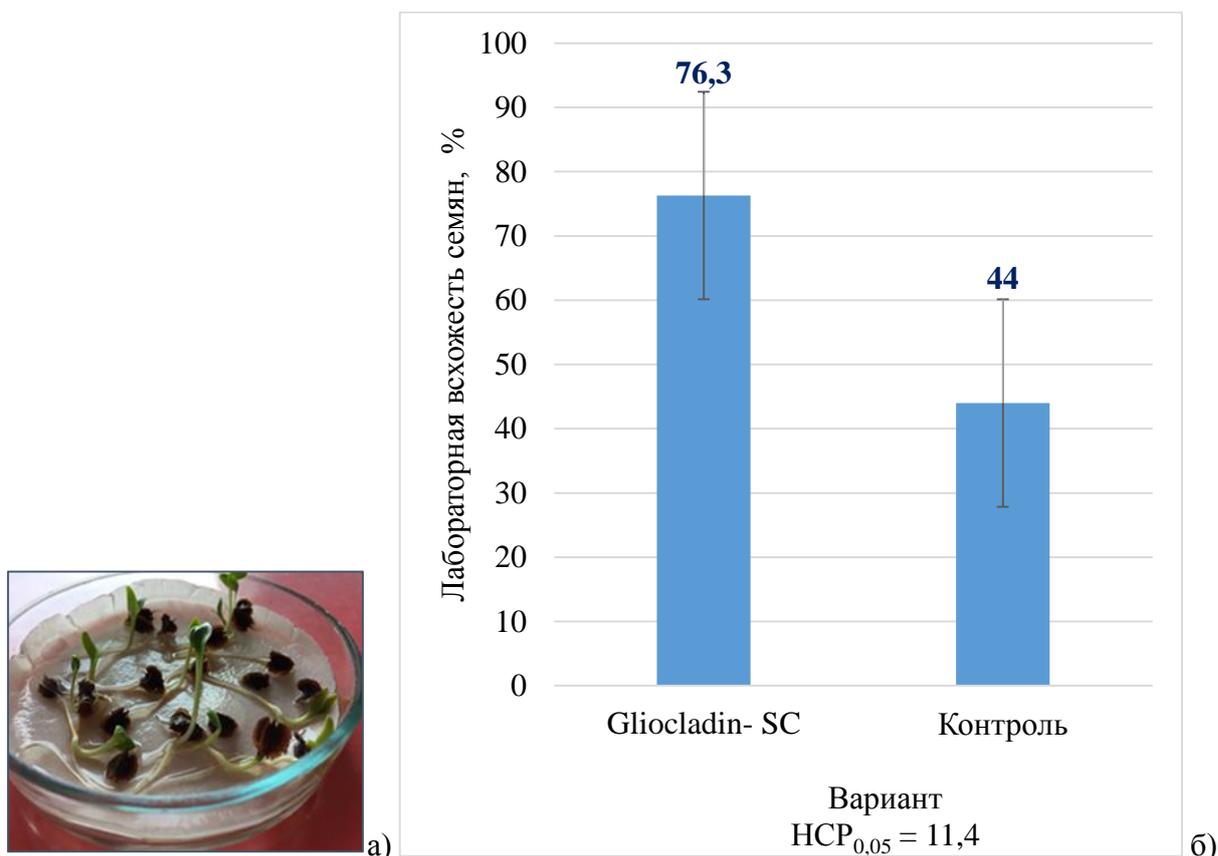


Рис. 3.5. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. биопрепаратом Gliocladin-SC на всхожесть в лабораторных условиях. а – прорастающие семена в чашке Петри, б – всхожесть (%) обработанных семян ревеня, высаженных в паллеты

Несмотря на обработку семян биопрепаратом Gliocladin-SC, всхожесть ревеня в открытом грунте без полива составила 15,2%, что оказалось значительно ниже всхожести семян, посеянных в паллеты – 76,3%. В итоге, лабораторная всхожесть семян в паллетах при обработке Gliocladin-SC была на 32,3% выше лабораторного контроля и на 61,2% выше всхожести в поле. Выращенная рассада была высажена на орошаемом опытном участке и дальнейшие наблюдения показали, что из окрепшей рассады были получены крепкие здоровые растения, которые не поражались вредителями корневой системы.

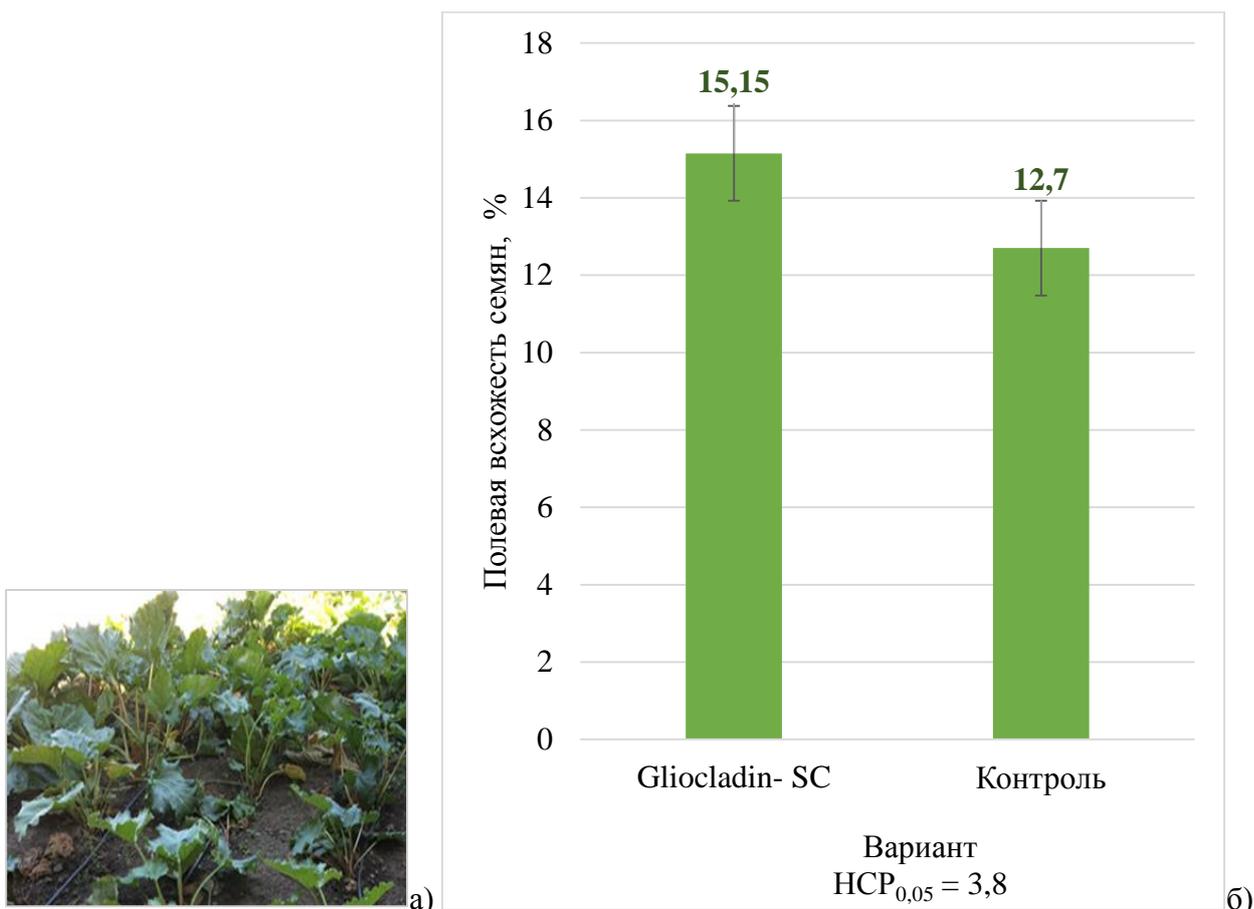


Рис. 3.6. Влияние предпосевной обработки семян *Rheum rhaponticum* L. биопрепаратом Gliocladin-SC на всхожесть в полевых условиях; а – опытный участок ревеня, б – всхожесть обработанных семян, посеянных в открытый грунт

Результаты опыта дают основание утверждать, что посев семян в открытый грунт менее эффективен, чем применение рассадного метода выращивания этой культуры, в сочетании с использованием биологических препаратов Gliocladin-SC и Trichodermin-SC для предпосевной обработки семян.

3.3. Определение локализации антраценпроизводных в клетках корня растений рода *Rheum*

Как известно, одним из основных методов подтверждения подлинности растительного сырья является метод морфолого-анатомического анализа. Материалом исследования служили корни *R. rhaponticum*, собранные на опытных участках. Объектом исследований стали боковые корни диаметром 5-10 мм. Анализ корней проводился при помощи светового микроскопа и позволил выявить ряд диагностических признаков. Так, покровная ткань корней вторичного строения представлена пробкой. Для корня характерно наличие камбиального кольца, ярко выделяющегося на поперечном срезе. К центру от камбия расположены элементы ксилемы, а к периферии – флоэма. Во вторичной ксилеме хорошо заметны широкие первичные радиальные лучи паренхимы (сердцевинные лучи), достигающие центра корня. К нижней стороне пробки примыкает слой мелких клеток колленхимы с блестящими белыми стенками, под которой лежит слой крупных клеток паренхимы первичной коры. Горизонтальные прослойки слабо одревесневшей ткани состоят из лубяных волокон. Паренхима сердцевинных лучей также относится к мягкому лубу. Неоднородные клетки, различающиеся по размерам и характеру содержимого, составляют сердцевину (Рисунок 3.7).

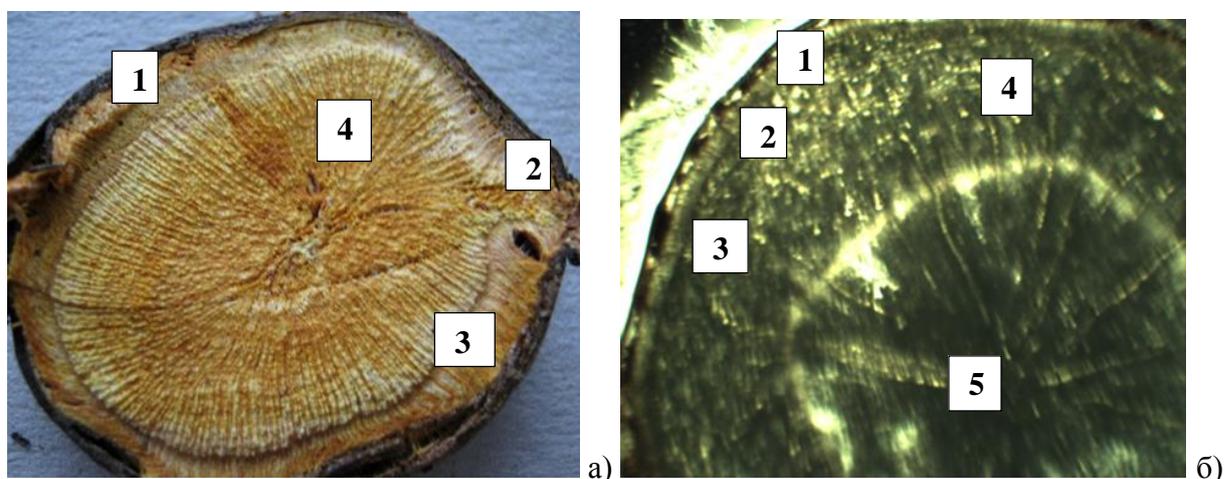


Рис. 3.7. Поперечный срез пятилетнего корня *Rheum rhaponticum* L. с годовыми кольцами: а) общий вид, б) микроскопическое строение (x 20)

1 – пробка; 2 – паренхима коры; 3 – камбий; 4 – сосуды ксилемы; 5 – первичная ксилема

Ближе к древесине расположены более мелкие клетки сердцевины, богатые крахмалом. В клетках паренхимы коровой части заметны мелкие крахмальные зерна, окрашивающиеся раствором Люголя в сине-фиолетовый цвет (Рисунок 3.8).

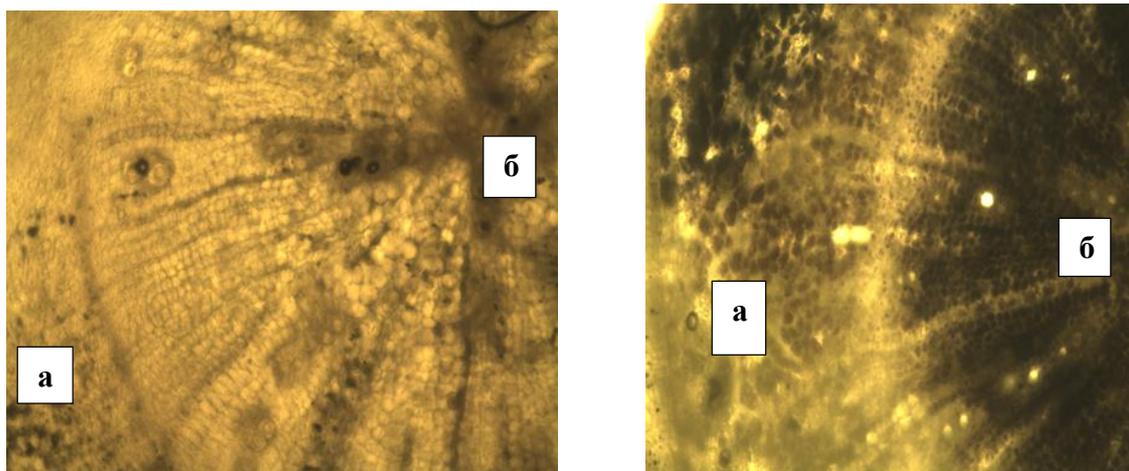


Рис. 3.8. Фрагмент корня *Rheum rhaponticum* L. (x 100), окрашенный раствором Люголя; а – клетки паренхимы коровой части с многочисленными крахмальными зернами, окрасившиеся раствором Люголя в сине-фиолетовый цвет, б – расположенные ближе к древесине мелкие клетки сердцевины, богатые крахмалом

В качестве основной гистохимической реакции на искомые антраценпроизводные биоактивные вещества была использована окраска корня раствором натрия гидроксида в концентрации 33%. Пробка не окрасилась в красный цвет под воздействием реактива. Это дает основание предположить, что в покровных тканях не накапливаются антраценпроизводные. Глубже, вслед за пробкой, располагается основная паренхима коровой части корня, отдельные клетки которой окрасились в красный цвет, что обусловлено наличием антраценпроизводных (Рисунок 3.9).

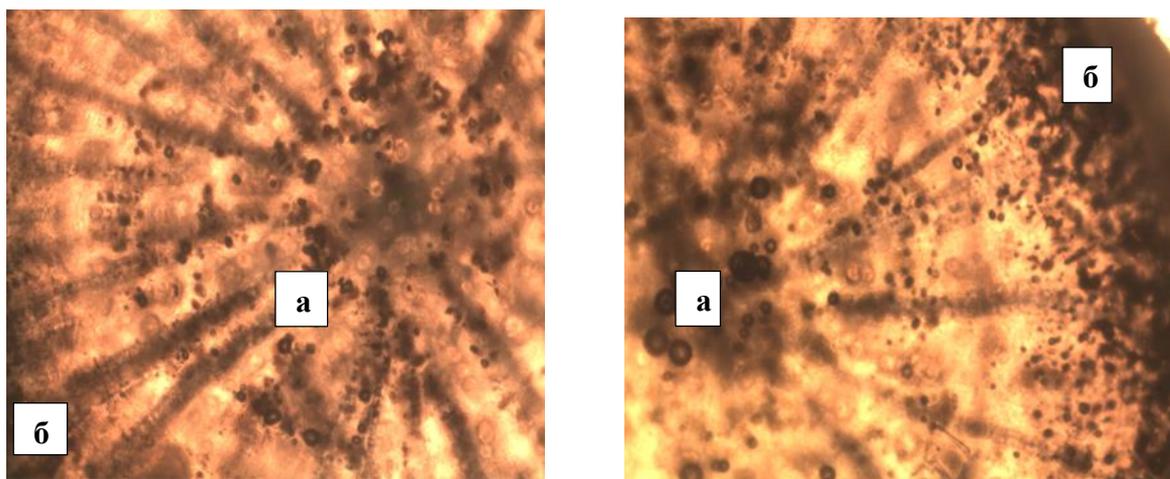


Рис. 3.9. Фрагмент корня *Rheum rhaponticum* L. (x 100), окрашенный раствором щелочи. Особенности локализации антраценпроизводных: а – паренхима сердцевинных лучей, б – паренхима коровой части корня

Прямоугольные клетки коровой паренхимы имеют более или менее утолщенные клеточные стенки и неправильное очертание полостей. Они располагаются рядами. Красным цветом окрасились также мелкие клетки сердцевинных лучей. Таким образом, в результате проведенных исследований, были выявлены зоны локализации антраценпроизводных: в основной паренхиме вторичной коры и паренхиме сердцевинных лучей корня ревеня.

3.4. Разработка способа получения экстрактов на основе растительного сырья *Rheum rhaponticum* L.

Исходя из наличия биологически активных веществ в составе корня *R. rhaponticum* (эмодин), листьев (кверцетин), были разработаны методы получения экстрактов и проведены исследования их действия в защите сельскохозяйственных культур. Химические свойства эмодина и кверцетина совпадают по растворимости в этаноле, а органические кислоты и гликозиды (рутин) растворяются в воде [76]. Поэтому, в целях получения расширенного спектра биоактивных веществ, мы использовали водно-этанольную экстракцию измельченных корней ревеня на водяной бане, с последующей мацерацией. Растворившиеся активные вещества отфильтровывали, выпаривали до сухого порошка и растворяли в 20%-ном водно-этанольном растворе до состояния концентрата. Растворимый концентрат был использован нами для создания рабочих растворов.

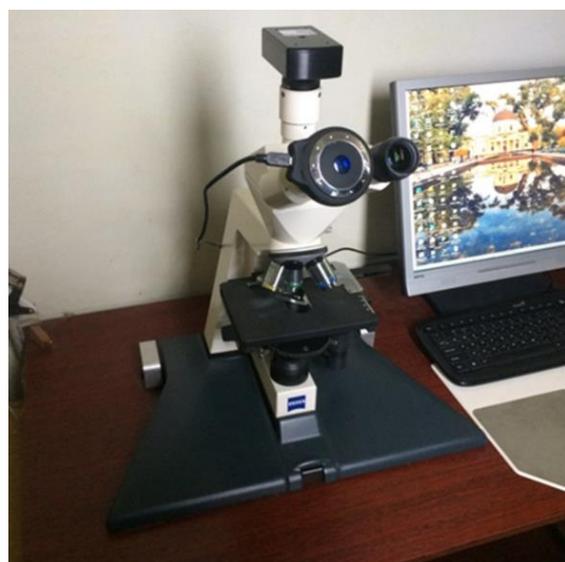


Рис. 3.10. Электрическая лабораторная мельница (Тип МРП-1, асинхронный двигатель) (а) и световой микроскоп (б)

Получение экстракта корня *R. rhaponticum*. Сбор сырья корней *R. rhaponticum* производился на опытном участке института осенью, когда в составе корня больше всего биоактивных веществ. Высушенное сырье измельчали, смешивали с растворителем в соотношении 1:10 и экстрагировали в течение 5–6 часов на водяной бане. Экстракция БАВ проводилась согласно технологической схеме (Рисунки 3.10 – 3.12).



Рис. 3.11. Технологическая схема получения экстракта из корней *R. rhaponticum* L.

В качестве экстрагирующего вещества использовали 70%-ный этиловый спирт. Для получения сухих порошкообразных биоактивных веществ, полученные экстракты упаривали под вакуумом. Выход сухого вещества из экстракта корня составил, в разные годы, от 17% до 19,7%. Сухое вещество растворяли в 20%-ном водно-этанольном растворе и получали растворимый концентрат. К преимуществам концентрата относятся: относительная простота в транспортировке, хранении, применении; не закупоривают сита и насадки; дают мало видимого осадка на обработанной поверхности. Благодаря этанолу и консервирующим свойствам антраценпроизводных, концентрат корня ревеня может храниться при комнатной температуре в течение 2-х и более лет.

Экстракты листьев и соцветий получали упрощенным методом. Схема получения экстракта соцветий и листьев *R. rhaponticum*: высушенные, перемолотые листья или соцветия ревеня доводили до кипения в воде, в пропорции 1:10. После остывания, добавляли 20% этанола и настаивали сутки. Отфильтрованный экстракт использовали в качестве концентрата для приготовления рабочих растворов на водной основе. Данный экстракт рекомендуется использовать непосредственно после приготовления, так как он быстро разлагается, даже при хранении в холодильнике.

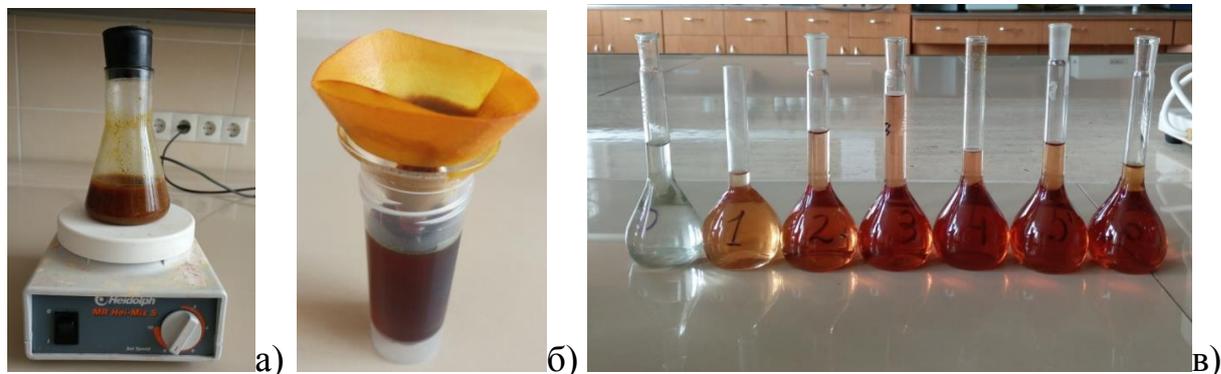


Рис. 3.12. а – экстракция на термомешалке, б – фильтрация экстракта, в – примеры различной концентрации экстракта

Наши результаты соотносятся с работами исследователей, которые выявили в клеточном соке листьев ревеня оксалат кальция (1-1,3%), щавелевую кислоту, кверцетин (до 6%), а также гликозид кверцетина – рутин (до 13,06%) перешедшие в экстракты из листьев и соцветий ревеня [83-84]. На этих действующих веществах основана биологическая эффективность экстрактов листьев и соцветий ревеня.

3.5. Качественные исследования компонентного состава водно-спиртовых извлечений из экстракта корня *R. rhaponticum* L.

Исследования проводили с помощью жидкостного хроматографа Agilent 1100, detector DAD, с использованием эмодина, в качестве стандарта (Рисунок 3.13, а).



Рис. 3.13. а – Прибор для проведения жидкостной хроматографии Agilent 1100, detector DAD, б – Спектрофотометр HALO VIS 10

Для приготовления извлечения из корней *Rheum* сырье предварительно измельчили до размера частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями диаметром 1 мм. Точную навеску в 1 г измельченного воздушно-сухого сырья помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл с притертой пробкой и добавляли 50 мл спирта этилового 70%. Колбу с содержимым присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 90 мин. Затем содержимое колбы отстаивали 10 мин., фильтровали через бумажный фильтр с красной полосой в мерную колбу вместимостью 200 мл. В изучаемом экстракте методом ВЭЖХ идентифицировано наличие соединений фенольной природы, которые представлены антраценпроизводными (Рисунок 3.14).

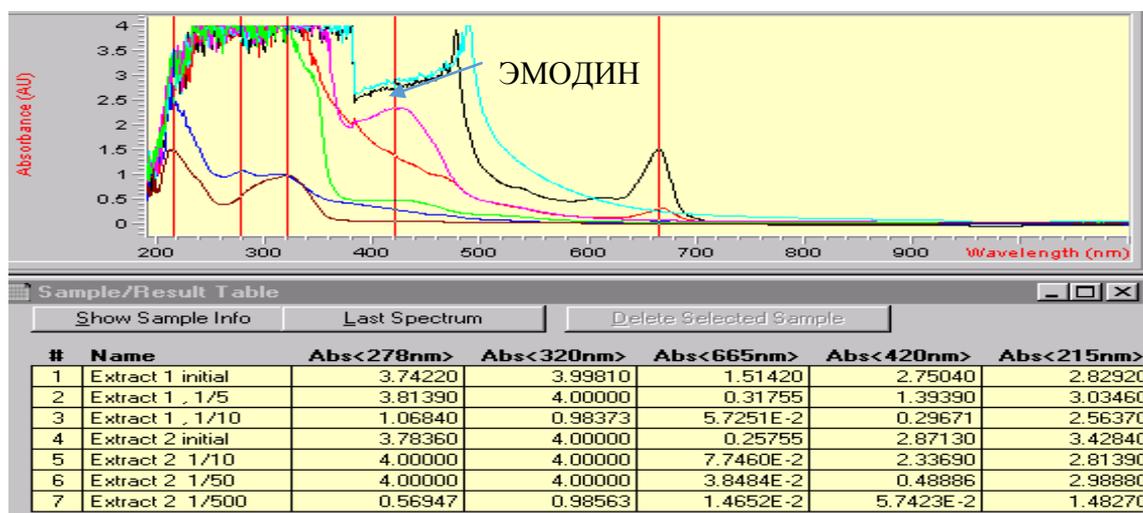


Рис. 3.14. ВЭЖХ-хроматограмма спиртового извлечения корня ревеня

Детекция антраценпроизводных проводилась при аналитической длине волны λ_{\max} 420 нм. Исследование показало, что доминирующим компонентом водно-спиртовых извлечений из корней *R. rhaponticum* является эмодин.

К фенольным соединениям относят вещества, содержащие в своей молекуле бензольное кольцо, которое несет одну или несколько гидроксильных групп. Фенольные соединения – химически активные вещества, у которых мобильные электроны бензольного кольца и неспаренные электроны кислорода фенольной группировки взаимодействуют. По числу гидроксильных групп различают одноатомные, двухатомные и трехатомные простые фенолы. Фенольные кислоты – производные бензойной кислоты, содержащие одну или несколько гидроксильных групп, широко распространены в растениях. Среди триоксибензойных кислот следует отметить галловую кислоту, получившую свое название от опухолеподобных образований – галлов (от лат. *galla* – чернильный орех), из которых ее добывали, в том числе для изготовления черных чернил. Диметиловый эфир галловой кислоты является специфичным соединением для покрытосеменных растений и часто получается при гидролизе лигнина.

Флавоноиды – полифенольные соединения, присутствующие в ряде растений. Учитывая многостороннее воздействие веществ флавоноидной природы на человека и животных, нетоксичность и широкую распространенность в природе, их относят к регуляторам биохимических процессов в организме и "модификаторам биологического ответа" [40, 208-209]. Количественный анализ флавоноидов в экстрактах из корней и листьев ревеня проведен с помощью спектрофотометра «HALO VIS 10», с помощью хлорида алюминия, с использованием кверцетина, в качестве стандарта (Рисунок 3.15., б).

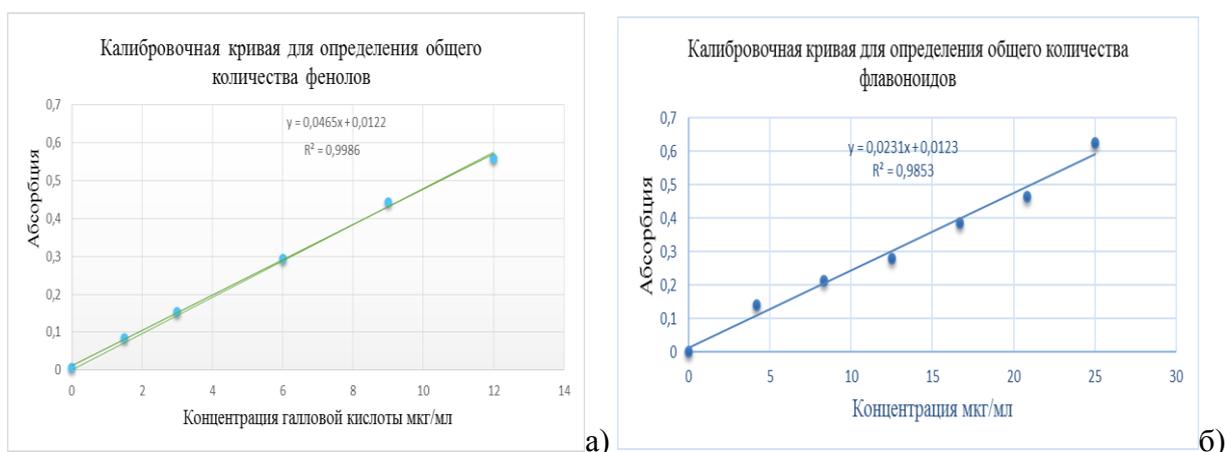


Рис. 3.15. Графики зависимости оптической плотности экстрактов ревеня от концентрации фенолов (а) и флавоноидов (б)

Оптическую плотность измеряли в интервале 510-760 нм на длине волны максимума поглощения в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см, в рабочую кювету помещали раствор с добавленным хлоридом алюминия, в кювету сравнения – раствор сравнения (Рисунок 3.15.).

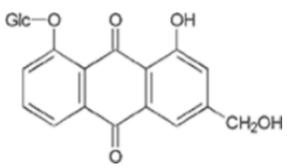
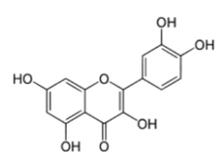
При выбранных оптимальных длинах волн для веществ-стандартов были построены калибровочные графики зависимости оптической плотности от количества кверцетина и галловой кислоты в спектрофотометрируемом растворе, которые позволили определить суммарное содержание флавоноидов (в пересчете на кверцетин) и фенолов (в пересчете на галловую кислоту). Результаты обработки данных показали, что количество флавоноидов и фенолов в экстракте корня в 2 раза больше, чем в экстракте листьев. Количество фенолов в корнях и листьях в 6 раз больше, чем флавоноидов (Таблица 3.3).

Таблица 3.3. Результаты количественного определения суммы флавоноидов и фенолов

№ п/п	Наименование экстракта	Общее количество флавоноидов, мг\100г	Общее количество фенолов, мг\100г
1	Корень ревеня	202,46	1233,9
2	Листья ревеня	86,45	588,8

Нами была составлена характеристика свойств основных действующих веществ *R. rhaponticum* (эмодин и кверцетин) для применения в защите растений от болезней и вредителей (Таблица 3.4).

Таблица 3.4. Характеристика свойств основных действующих биоактивных веществ в составе растительного сырья из листьев и корней *Rheum rhaponticum* L.

Название / свойства	Эмодин	Кверцетин
Структура		
Формула	$C_{15}H_{19}O_5$	$C_{15}H_{10}O_7$
Химические свойства	растворим в этаноле, каустической соде, растворе карбоната натрия	Растворим в этаноле, уксусной кислоте
Свойства в защите растений	инсектицид, антифидант, бактерицид, фунгицид.	низкомолекулярный антиоксидант, субстрат пероксидазы, инсектицид, антифидант, бактерицид, противовирусный, ингибитор альдозы-редуктазы.

Полученные и исследованные экстракты из корней и листьев *R. rhaponticum* предстояло исследовать на наличие различных типов активности по отношению к болезням и вредителям сельскохозяйственных культур.

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

3.5.1. Определение инсектицидной активности экстрактов из корня, листьев и соцветий *Rheum rhaponticum* L. для контроля вредителей семейства *Aphididae*

Возможность использования экстрактов корня, листьев и соцветий, в качестве средств защиты растений от вредителей была исследована в лабораторных условиях против нескольких видов тли. На листьях шавната, яблони и пшеницы были собраны образцы *Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop. и *Schizaphis graminum* Rondani. Листовые пластинки, заселенные вредителем, помещали в чашки Петри в 4-кратной повторности для каждого варианта. Образцы обрабатывали рабочими растворами следующих вариантов: V1 – 5% R; V2 – 5% L; V3 – 5% F, где R – экстракт корня; L - экстракт листьев; F - экстракт из соцветий *R. rhaponticum*. Контрольные образцы обрабатывали водно-этанольным раствором (1%). В качестве биологического эталона использовали раствор инсектицида Pelecol (1%). Проводили учеты особей, покинувших субстрат (детеррентность) и погибших (инсектицидность) (Рисунок 3.16 - 3.18, Таблица П. 1.1).



Рису. 3.16. Влияние обработки экстрактами из растений *Rheum rhaponticum* L. для контроля тли. Состояние тли до обработки экстрактами (а), тля, погибшая после обработки (б)

В результате проведенных, предварительных опытов для контроля *Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop. и *Schizaphis graminum* Rondani., мы выяснили, что в первые сутки после обработки все подвижные особи тли (крылатые и бескрылые) пытаются покинуть

обработанные листья во всех опытных вариантах. Это позволяет предположить, что субстрат (листья) стал для них непривлекательным из-за обработки экстрактами, проявляющими детеррентные свойства. Инсектицидные свойства экстрактов были определены по числу погибших особей (Рисунок 3.17).

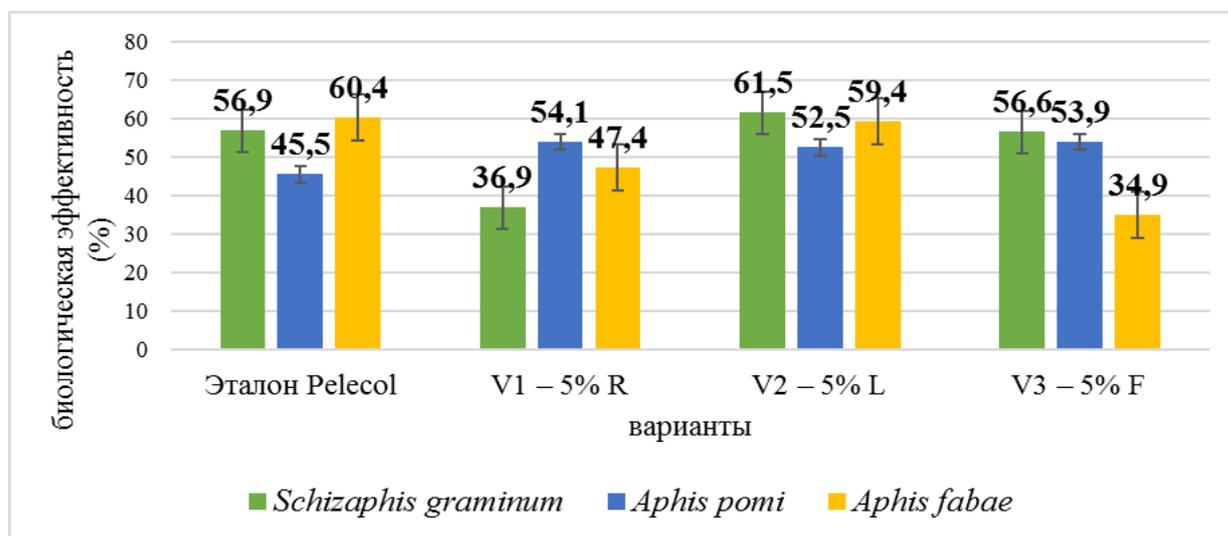


Рис. 3.17. Биологическая эффективность (%) экстрактов *Rheum rhaponticum* L. (R – корня; L – листьев; F – соцветий) в контроле различных видов тли

Значения инсектицидной активности экстракта корня ревеня выше эталонных значений были в варианте с яблонной тлей (54,1%). Инсектицидная активность экстракта листьев ревеня превысила эталонные значения для всех видов тли: *Aphis pomi* (52,5%), *Schizaphis graminum* (61,5%) и *Aphis fabae* (59,4%). Инсектицидная активность экстракта соцветий ревеня была на уровне эталона для злаковой (56,6%) и яблонной (53,9%) тли. Бобовая тля (34,9%) оказалась наименее чувствительна к этому экстракту.

В итоговой диаграмме можно отметить, что наивысшую инсектицидную активность проявил экстракт листьев (57,8%), и превысил значение эталона, что можно объяснить присутствием значительного количества кверцетина и щавелевой кислоты. Доступность и рентабельность экстракта делает его перспективным для использования в интегрированной системе защиты растений.

Несколько ниже были значения инсектицидной активности экстракта из соцветий ревеня (48,5%). В составе соцветий накапливается большое количество кверцетина (до 13,5%), однако фенолов и кислот содержится меньше, чем в других частях растения, поэтому экстракт проявляет недостаточную инсектицидную активность и очень быстро разлагается. По перечисленным причинам применение экстракта из соцветий ревеня в защите растений является не технологичным.

Экстракт корня ревеня в концентрации 5% проявил явное антифидантное действие и слабую инсектицидную активность – 46,1% (Рисунок 3.18).

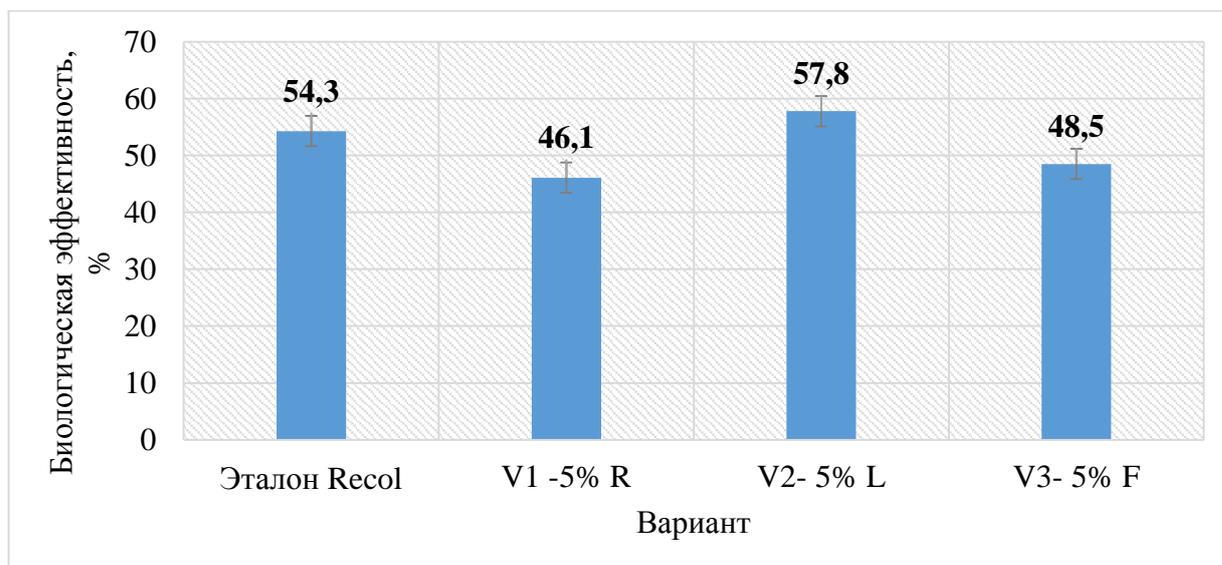


Рис. 3.18. Средняя биологическая эффективность экстрактов *Rheum rhaponticum* L. (R – корня; L – листьев; F – соцветий) в контроле вредителей семейства *Aphididae*

Таким образом, результаты исследований показывают, что испытанные экстракты из различных частей растения ремень обладают различной инсектицидной активностью по отношению к вредителям семейства *Aphididae*. Наивысшую инсектицидную активность проявил экстракт из листьев ревеня с биологической эффективностью 57,8%.

3.5.2. Определение биологической эффективности экстрактов из корня и листьев *Rheum rhaponticum* L. для контроля вредителя *Sitotroga cerealella* Oliv.

В целях определения эффективности экстрактов растения *R. rhaponticum*, в течение более продолжительного времени и в большем диапазоне концентраций, были испытаны различные формы экстрактов в контроле вредителя запаса – гусениц зерновой моли *S. cerealella*. В опытах по определению влияния порошка и экстрактов *R. rhaponticum* в контроле личинок *S. cerealella* было установлено, что экстракт в концентрации 80% достоверно подавляет отрождение имаго на зернах ячменя. Порошок из корня *R. rhaponticum* лишь несколько отсрочил отрождение бабочек, и результаты его применения соотносятся с контрольными значениями. В то же время, динамика отрождения бабочек *S. cerealella* явно указывает на стимулирующее действие низких концентраций экстракта корня *R. rhaponticum* на отрождение имаго [210]. В опыте по определению влияния экстрактов корня и листьев *Rheum* в контроле *S. cerealella* были использованы следующие составы вариантов: V1 – 20% R; V2 – 80% R; V3 – 20% L; V4 – 20% L + 20% R. Контрольные

образцы обрабатывались водно-этанольным раствором (1%). В качестве биологического эталона был использован инсектицид Pelecol (1%) (Рисунки 3.19 и 3.20, Приложение Таблица 1.2).



Рис. 3.19. Опыт по определению влияния экстрактов корня и листьев *Rheum* на контроль вредителя запасов: а) зерновая моль (имаго), б) чашки Петри с обработанным зерном в термостате

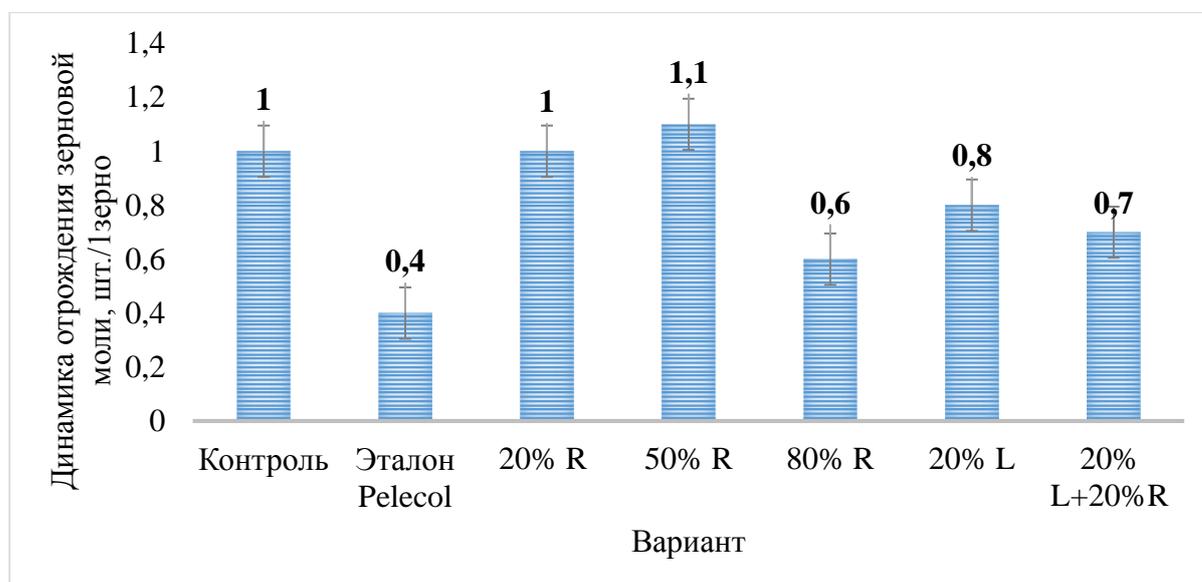


Рис. 3.20. Динамика отрождения имаго *Sitotroga cerealella* Oliv. при обработке экстрактами корня (R) и листьев (L) *Rheum rhaponticum* L.

В результате проведенного эксперимента было установлено, что применение экстракта корня ревеня в концентрации 80%, снижает отрождение имаго в 2 раза, в то время, как низкие концентрации этого же экстракта корня незначительно стимулируют и ускоряют

процесс отрождения. Инсектицидное действие было отмечено у экстракта листьев ревеня (0,8 шт./зерно) и комбинации экстрактов корня и листьев ревеня (0,7 шт./зерно).

Действие экстракта листьев основано на содержании оксалата кальция, щавелевой кислоты, инсектицида (кверцетин). Наши результаты соотносятся с данными о том, что добавление щавелевой кислоты (0,001-0,003) к инсектицидам актеллик или фитоверм для защиты растений от личинок облепиховой мухи, гусениц выемчатокрылой моли, капустной белянки, лугового мотылька, капустной, грушевой и калиновой тлей, колорадского жука, позволяет снизить расход дорогостоящего препарата в 2 раза [211-212]. Присутствие в рабочем растворе щавелевой кислоты создает стабилизирующий эффект защиты от вредителей независимо от погодных условий. Селективные инсектициды на основе оксалатов (например, Thiocyclam Hydrogen Oxalate. - $C_{12}H_{24}N_2O_4S_6$) с контактным и ограниченно системным действием (кишечным) для контроля вредителей *Lepidoptera*, *Coleoptera* широко используются (в Китае, Испании) и активно экспортируются по миру. Все эти данные подтверждают перспективность использования экстракта листьев ревеня (инсектицидная активность, рентабельность, доступность) в сочетании с системными инсектицидами для снижения дозы химического препарата.

3.5. Выводы к главе 3

1. Определены особенности агротехники выращивания растения *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 [210, 220-224].

2. Выявлены зоны локализации антраценпроизводных соединений в паренхиме вторичной коры и сердцевинных лучей. Разработана схема экстракции биоактивных веществ из *Rheum rhaponticum*. С помощью спектрофотометрии и ВЭЖХ определено, что доминирующим компонентом БАВ корня ревеня является эмодин. Установлено, что количество флавоноидов в экстракте корня *Rheum rhaponticum*, выращенного в биоклиматических условиях Республики Молдова, составило 202,46 мг/100г, в экстракте листьев – 86,45 мг/100г; количество фенолов в корнях составило 1233,9 мг/100 г, в листьях составило 588,8 мг/100 г [214, 216, 226].

3. Определена инсектицидная активность водно-этанольных экстрактов корня (44,5%), соцветий (48,5%) и листьев ревеня (57,8%) для подавления вредителей из семейства *Aphididae* и установлено, что концентрация 80% экстракта корня снижает в два раза отрождение имаго зерновой моли, в сравнении с контролем [213].

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

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

Поскольку в настоящее время возрастает роль природных пестицидов, получаемых из растительного сырья, можно считать, что экстракты из корней и листьев ревеня становятся перспективным и доступным источником биоактивных веществ для защиты растений. БАВ, такие как кверцетин (низкомолекулярный антиоксидант, субстрат пероксидазы, пестицид, антифидант, бактерицид, противовирусный, ингибитор альдозы-редуктазы) и эмодин (пестицид, антифидант, бактерицид, фунгицид) могут сыграть свою роль в подавлении вредных организмов в сельском хозяйстве. Прямое воздействие эмодина, содержащегося в корне ревеня, на прорастание семян было изучено в мире недостаточно и результаты исследований противоречивы. В регуляции покоя и индукции прорастания семян, важную роль играет негормональный регулятор роста – кверцетин, который входит в состав J3 – ингибиторного комплекса [168]. Являясь компонентом единой антиоксидантной системы растений, кверцетин служит субстратом пероксидазы и окисляется ферментом в реакциях индивидуального и совместного окисления. Однако механизм этого взаимодействия недостаточно изучен.

Начальным этапом наших исследований в этом направлении стало определение фунгицидной активности экстракта корня ревеня против корневых гнилей семян сои (двудольные) и кукурузы (однодольные). Для этого, было определено действие экстракта корня ревеня в подавлении фитопатогенных организмов *F. sporotrichiella*, *F. moniliforme*, *F. graminearum* на агаризированной питательной среде методом диффузии в агар с использованием бумажных дисков. В результате проведенных лабораторных исследований, была отмечена чувствительность грибов рода *Fusarium* к экстракту корня ревеня. При применении концентраций – 80%, 50% и 10% экстракта корня происходило образование стерильных зон подавления роста патогенов вокруг бумажных дисков, тогда как в контроле и в концентрации экстракта корня 1%, рост патогена был отмечен по всей поверхности агаровой пластинки. 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, Рисунок 4.1., Рисунок П. 2.1).

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



Рис. 4.1. Образование стерильных зон подавления роста патогенов экстрактом корня *Rheum rhaponticum* L.: а – *Fusarium moniliforme* Sheldon., б – *Fusarium graminearum* Schw., в – *Fusarium sporotrichiella* Bil.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что фунгицидное действие экстракта корня ревеня прямо пропорционально его концентрации. Наибольшей фунгицидной активностью, из исследованных, обладает экстракт корня ревеня в 80%-ной концентрации. Наиболее чувствительны к экстракту корня возбудители корневой гнили сои (*F. sporotrichiella*) [214, 226].

4.2. Определение влияния предпосевной обработки семян однодольных и двудольных растений экстрактами корня и листьев *Rheum rhaponticum* L. на всхожесть и биометрические показатели проростков

Известно, что листья ревеня, наряду с эмодином и кверцетином, содержат более 1% щавелевой кислоты (инсектицид, антисептик, активатор), которая обладает ростостимулирующей активностью и стабильно активизирует показатели всхожести семян. Поэтому наши дальнейшие исследования были направлены на определение биологической эффективности экстрактов листьев и корней ревеня, отдельно и в композиции, для подавления фитопатогенных агентов сельскохозяйственных культур.

Исследование влияния предпосевной обработки семян экстрактами корня и листьев *R. rhaponticum* на всхожесть и размеры проростков кукурузы сахарной (гибрид «Pogumbeni 280») и сои (сорт «Надежда») проводили в лабораторных условиях для определения оптимальных концентраций. В качестве эталона использовали фунгицидный препарат Royal FLO 42 SL, в контроле – обработка семян водой.

При сравнении средних двух независимых выборок, мы применяли метод по t – критерию Стьюдента, предложенный английским ученым Ф. Госсетом. С помощью данного метода мы оценивали существенность разности средних значений ($d = x_1 - x_2$). При использовании дисперсионного анализа в нашей экспериментальной работе, существенные разности между средними значениями определяли по $НСР_{0,05}$. В системе государственного испытания сельскохозяйственных культур на основе $НСР_{0,05}$, все варианты распределяются на три группы:

1 группа – отклонения, средних значений от стандарта (контроля) с положительным знаком, больше $НСР_{0,05}$;

2 группа – отклонения с положительным или отрицательным знаком не выходят за пределы $НСР_{0,05}$;

3 группа – отклонения с отрицательным знаком, больше по абсолютной величине $НСР_{0,05}$ [28-30].

Было установлено, что влияние предпосевной обработки семян экстрактом из корня ревеня в концентрации 1%, экстрактом листьев ревеня в концентрации 0,5%, и композиции экстрактов (0,5% L + 0,5% R) на всхожесть и размеры проростков является достоверно стимулирующим для семян сои сорта «Надежда». Влияние предпосевной обработки семян кукурузы сахарной (гибрид «Pogumbeni 280») экстрактом листьев ревеня в концентрации 0,5% и экстрактом корня ревеня в концентрации 3%, состояло в увеличении всхожести, которая составила 100% и 97,7% соответственно, что выше эталонных и контрольных значений. Однако, биометрические показатели проростков (размер корешка и стебелька) остались в пределах контрольных значений. Наиболее стабильно стимулирующей все показатели прорастания стала обработка семян композицией экстрактов корня и листьев ревеня: 1% L + 1% R – для кукурузы и 0,5% L + 0,5% R – для сои.

В результате было доказано стимулирующее действие на энергию прорастания, всхожесть и биометрические параметры проростков исследуемых культур, относящихся к различным ботаническим группам (однодольные и двудольные) экстракта листьев (0,5 %) и экстракта корня ревеня (1 %). Наиболее гармонично по всем биометрическим показателям проявилось фитостимулирующее действие композиции экстрактов корня и листьев ревеня

(0,5% L + 0,5% R) для семян сои, и композиции (1% L + 1% R) – для семян кукурузы. Полученные результаты зафиксированы в таблице 4.2 и в приложении 3.

Таблица 4.2. Влияние экстрактов из корня (R) и листьев (L) *Rheum rhaponticum* L. на всхожесть семян и размеры проростков кукурузы сахарной и сои в лабораторных условиях

Вариант	Энергия прорастания		Всхожесть		Размеры корешка		Размеры стебелька	
	%	группа	%	группа	см	группа	см	группа
Соя сорта «Надежда»								
Контроль	38,3		48,3		1,7		0,4	
Эталон (Royal FLO 42 SL)	55	1	73,3	1	2,1	2	1,3	1
V1 - 0,5% L	63,3	1	80	1	1,6	2	1,2	1
V2 – 1% L	43,3	2	68,3	1	1,1	3	1,2	1
V3 – 1% R	61,7	1	83,3	1	1,8	2	2,0	1
V4 – 3% R	43,3	2	78,3	1	1,8	2	1,9	1
V5 - 0,5% L + 0,5% R	56,7	1	90	1	1,9	2	2,1	1
НСР _{0,05}	12,4		13,6		0,6		0,3	
Кукуруза сахарная «Pogumbeni 280»								
Контроль	80		86,7		9,1		6,1	
Эталон (Royal FLO 42 SL)	70	2	93,3	2	9,6	2	8,1	1
V1 – 0,5% L	86,7	2	100	1	10,3	2	7,4	1
V2 – 1% L	70	2	80	3	5,6	3	6,3	2
V3 – 1% R	80,7	2	86,7	2	14,8	1	9,1	1
V4 – 3% R	83,3	2	97,7	2	9,3	2	6,6	2
V5 – 1%L+1%R	90	2	93,3	2	13,1	1	8,4	1
НСР _{0,05}	11,4		12,3		1,1		0,7	

Выбрав наиболее результативные составы вариантов, мы продолжили их изучение на тех же культурах методом мелкоделяночных опытов. Для определения стимулирующего влияния предпосевной обработки экстрактами ревеня семян сои и кукурузы был использован естественный инфекционный фон почвы, а для исследования фунгицидных свойств экстрактов ревеня, был использован искусственный инфекционный фон почвы. Применялась обработка семян указанными составами в течение 15 минут, в трехкратной повторности (по 20 растений в каждой повторности).

Состав вариантов сои, сорт «Надежда»: контроль; эталон Royal Flo; V 1 – 0,5% L; V 2 – 1% R; V 3 – 0,5% L + 1% R. Состав вариантов кукурузы, гибрид «Pogumbeni 280»: контроль; эталон Royal Flo; V 1 – 0,5% L; V 2 – 3% R; V 3 – 0,5% L + 3% R. В контроле – обработка водой. В качестве эталона – препарат Royal Flo.

Растения располагались на опытном участке в 3-кратной повторности с учетом рандомизации (Приложение 3.2, 3.3). Были определены показатели всхожести и размеры растений (Таблица 4.3, 4.4).

Таблица 4.3. Влияние предпосевной обработки семян кукурузы сахарной и сои экстрактами из корня (R) и листьев (L) *Rheum rhaponticum* L. на показатели всхожести и размеры проростков

Вариант	Всхожесть, %	Размер стебелька, см
Кукуруза сахарная, гибрид «Pogumbeni 280»		
Контроль	60,0	32,6
Эталон Royal Flo	71,7	41,7
V1 - 0,5% L	71,7	45,1
V2 – 3% R	80,0	42,6
V3 – 0,5% L + 3% R	86,7	42,0
HCP _{0,05}	12,0	5,2
Соя, сорт «Надежда»		
Контроль	21,7	18,1
Эталон Royal Flo	31,7	18,4
V1 – 0,5% L	33,3	18,2
V2 – 1% R	43,3	20,5
V3 – 0,5% L + 1% R	45,0	19,4
HCP _{0,05}	9,9	1,3

Результаты опыта подтвердили наши предварительные 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%).

Экстракт корня ревеня (V2) также проявил фитостимулирующие свойства. Предпосевная обработка этим экстрактом увеличила показатели всхожести (кукурузы на 26,7%, сои на 14,4%) и показатели размеров корешка и стебелька проростков были сопоставимы с эталонными. Предпосевная обработка семян экстрактом листьев ревеня (V1) оказал наименьшее 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 посеяны семена, обработанные определенными составами в течение 15 минут, повторность трехкратная. По истечению 30 суток растения были аккуратно извлечены из почвы вместе с корневой системой. Основание стебля очистили и оценили степень заражения растений, согласно шкале для учета степени пораженности растений корневой гнилью.

Результаты исследований по указанной методике подтверждают эффективность метода использования искусственного заражения, при котором степень поражения контрольных растений достигала 25-27%. Биологическая эффективность эталона составила

58,6-67,6%. Фунгицидные свойства экстракта листьев были в соответствии с эталонными значениями (Таблица 4.4).

Таблица 4.4. Биологическая эффективность предпосевной обработки семян кукурузы и сои экстрактами из корня (R) и листьев (L) *Rheum rhaponticum* L. на искусственном инфекционном фоне

№	Варианты	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Кукуруза, гибрид «Pogumbeni 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

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.

Наши исследования соотносятся с утверждениями ученых, что антраценпроизводные вещества экстрактов растений семейства *Polygonaceae* обеспечивают борьбу с корневыми гнилями и другими болезнями сельскохозяйственных культур, главным образом, вызывая накопление в растении фунготоксических фенольных соединений [215]. Экстракты являются индукторами системной резистентности (ISR), повышая чувствительность растения и скорость реагирования на проникновение инфекций. Помимо способа действия ISR, нами было также подтверждено, что экстракт *R. raponticum* обладает прямым фунгицидным действием на фитопатогены рода *Fusarium* [216].

Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что наибольшими фунгицидными свойствами, из представленных нами выше вариантов, обладает сочетание экстрактов корня и листьев ревеня, и это самый перспективный состав для предпосевной

обработки семян растений. Следовательно, необходимо отметить синергетическое действие данного фунгицидного состава. Автор видит следующие возможные причины синергизма: а) значение РН в кислом диапазоне экстракта листьев (органические кислоты) переводит антрахинонпроизводные (эмодин) вещества из экстракта корня в более активное состояние; б) флавоноиды (кверцетин) и органические кислоты (щавелевая кислота) экстракта листьев дополняют и усиливают действие фенолов (эмодин) экстракта корня.

Синергизм пестицидов был определен в науке, как «одновременное действие двух или более соединений, в которых общий ответ организма на комбинацию пестицидов больше, чем сумма отдельных компонентов» [217]. Следовательно, когда фунгициды взаимодействуют синергически или аддитивно, достигается высокий уровень контроля заболевания с уменьшенной дозировкой каждого отдельного фунгицида. Обычно наилучший эффект достигается с помощью комбинаций фунгицидов с различными способами действия, но синергизм также был продемонстрирован при комбинированном использовании продуктов с аналогичным способом действия [218]. Композиция, примененная нами для модулирования фитопатогенной инфекции, включает экстракт корня ревеня семейства *Polygonaceae*, содержащий производные антрахинона, которые являются фунгицидами и индукторами системной резистентности растения к фитопатогенам и анти-фитопатогенный (противомикробный) агент экстракта листьев - щавелевая кислота. «Анти-фитопатогенный агент» представляет собой агент, который модулирует рост фитопатогена на растении или, альтернативно, предотвращает заражение растения патогеном. Устойчивость фитопатогена к вышеупомянутой комбинации анти-фитопатогенных агентов может быть снижена. Полученные экстракты корня и листьев ревеня можно использовать в сочетании друг с другом и/или с другими анти-фитопатогенными агентами, экстрактами растений, биопестицидами, неорганическими средствами защиты растений (такими как медь), поверхностно-активными веществами [219] или натуральными маслами (масло чайного дерева, обладающее пестицидными свойствами), или химическими фунгицидами или бактерицидами. Следовательно, пестицидный эффект усиливается за счет синергизма между двумя (или более) продуктами, и риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений штаммов уменьшается. Экстракты корня и листьев ревеня, полученные нами, обеспечили:

- опосредованное действие на контроль корневых гнилей сои рода *Fusarium*, путем индукции системной резистентности этих культур к названному патогену;

- прямое фунгистатическое действие против фитопатогенов трех видов рода *Fusarium*;

- стимулирующее действие на всхожесть и развитие проростков сои.

Для оптимизации композиций, мы изучили свойства комбинаций экстрактов корня ревеня с микроэлементами на всхожесть семян кукурузы.

4.2.1. Определение влияния предпосевной обработки семян кукурузы экстрактом корня ревеня в сочетании с микроэлементами на всхожесть и биометрические показатели проростков

Известно, что обработка семян перед посевом сельскохозяйственных культур направлена на улучшение качества материала и является самым эффективным и экономичным способом использования микроудобрений. Наиболее популярна и эффективна предпосевная обработка семенного материала комплексами микроэлементов. В наших исследованиях семян однодольных и двудольных сельскохозяйственных культур был использован экстракт корня отдельно, и в сочетании с комплексом микроэлементов (Cu^{2+} и Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}), для предпосевной обработки.

Объектами исследований стали семена кукурузы и овощных культур семейства *Cucurbitaceae* (кабачок, дыня, тыква, огурец). 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 был использован экологически безопасный препарат Рекол (5%), в контроле – обработка семян водой. Полученные результаты, отражающие влияние композиций на всхожесть и размеры проростков семян кукурузы, отражены в Таблице 4.5.

Таблица 4.5. Влияние экстракта корня (R) *Rheum rhabarbaricum* 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
HCP _{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. Другие варианты в опыте с семенами кукурузы сахарной в различной степени повлияли на биометрические показатели прорастания, которые, с учетом наименьшей средней разницы, находились в пределах контрольных значений. Добавка меди к экстракту V1 – 0,4% (Cu^{2+} + R), вызвала некоторый ингибирующий эффект на энергию прорастания и размер корешка.

Полученные результаты соотносятся с исследованиями, доказывающими, что вторичные метаболиты растений в низких концентрациях помогают вызвать прорастание, нарушая покой семян, способствуют росту корней за счет повышения доступности влаги и регулирования температуры, увеличивают минерализацию питательных веществ и улучшают их поглощение [220]. Эти соединения играют положительную роль в физиологических процессах, таких как прорастание семян, рост корней, накопление хлорофилла, фотосинтез, транспирация, расширение листа, транслокация и генетические кодировки [221-222]. Вторичные метаболиты регулируют выработку гормонов растений. Все эти гормоны и гормон-подобные вещества действуют стимулирующим образом в низких концентрациях [223-224].

Ревень, по результатам наших исследований его биологических свойств, мы относим к аллелопатически активным растениям. Экстракты листьев и корня ревеня, содержащие большое разнообразие фенольных соединений, являются аллелопатически активными и предлагают достойную альтернативу для синтетических регуляторов роста растений благодаря экономичности, экологичности, простоте использования, эффективности и безопасности.

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

Для изучения фунгицидных и стимулирующих свойств экстракта корня *R. rhabarbarum* в контроле мучнистой росы, мы провели исследования в условиях закрытого грунта на рассаде овощных культур *Cucurbitaceae* – тыквы, дыни, кабачка и огурца с использованием искусственного заражения рассады. Суспензия конидий возбудителя мучнистой росы огурца, подготовили путем смыва конидий с больных листьев растения. С помощью микроскопа водную суспензию скорректировали до $2,0 \times 10^5$ конидий на мл. Инфицированные суспензией конидий мучнистой росы методом опрыскивания растения помещали в рандомизированных блоках теплицы, в 4-кратной повторности при 23-27°C. Мицелий мучнисто-росяных грибов разрастался на поверхности листьев и побегов, образуя

налет белого цвета. Для фитопатологической оценки состояния рассчитали распространенность (частоту встречаемости) пораженных растений, интенсивность (степень, поражения), а также биологическую эффективность (%) обработок экстрактами ревеня. Результаты опыта представлены в таблице 4.6, рисунках 4.2, 4.3 и рисунке П 4.1.

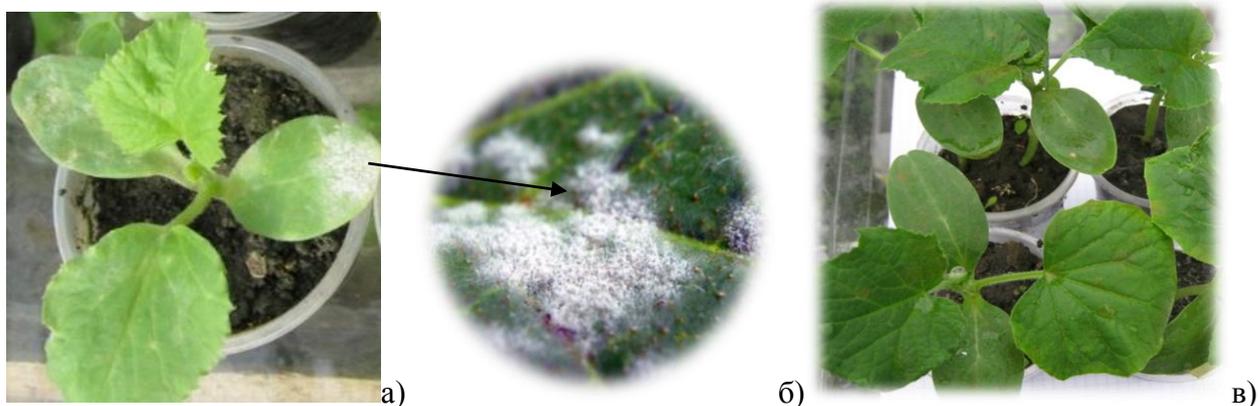


Рис. 4.2. Поражение растений мучнистой росой: а) контрольные растения; б) мицелий на листьях; в) растения, обработанные экстрактами

В результате исследований было отмечено, что после обработок заболевшей рассады экстрактом корня ревеня, распространение болезни по растению прекращалось. В то же время, контрольные растения после заражения покрывались колониями мучнистой росы, и перезаражение новых листьев приводило к гибели растений в контроле в течение месяца.

Было установлено, что в контролируемых условиях закрытого грунта биологическая эффективность экстракта корня ревеня в концентрации 1,5% на рассаде дыни достигала 95,4%, на рассаде кабачка 97,7%, а в среднем значении, для рассады тыквенных – 96,6%. Как видно из данных, максимальные концентрации экстракта корня ревеня надежно защитили рассаду от распространения заражения. Экстракт корня ревеня в концентрации 0,4% проявил эффективность ниже эталонных значений на 22,4%. Биологическая эффективность экстракта в концентрациях 0,6-0,8% оставалась в пределах погрешности эталонных значений.

Таким образом, можно сделать вывод, что экстракт корня *Rheum rhaponticum* семейства *Polygonaceae* является не только: а) прямым фунгицидом в отношении конидий мучнистой росы, но и б) индуктором системной резистентности рассады, повышающим чувствительность растений в целом и быстрому реагированию на перезаражение инфекций мучнистой росы. Было доказано, что биологическая эффективность экстракта росла прямо пропорционально концентрации (Таблица 4.6, Рисунок 4.3).

Таблица 4.6. Биологическая эффективность экстракта корня (R) *Rheum* в защите рассады *Cucumis melo* L. и *Cucurbita pepo* L. от мучнистой росы

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
<i>Cucumis melo</i> (дыня)					
1	Контроль	3,4	100,0	84,8	
2	Эталон	1,4	75,0	34,4	59,4
3	R 0,4 %	1,5	82,5	36,6	56,9
4	R 0,6 %	0,9	82,5	21,5	74,7
5	R 0,8 %	0,7	82,5	17,0	80,2
6	R 1 %	0,5	62,5	10,7	85,9
7	R 1,5 %	0,2	57,5	5,3	95,4
	HCP _{0,05}			6,3	14,3
<i>Cucurbita pepo</i> (кабачок)					
1	Контроль	2,6	90,0	65,0	
2	Эталон	0,2	25,0	5,0	92,3
3	R 0,4 %	1,3	52,5	32,5	50,0
4	R 0,6 %	0,6	52,5	15,0	76,9
5	R 0,8 %	0,5	50,0	12,5	80,8
6	R 1 %	0,3	43,8	7,5	89,2
7	R 1,5 %	0,06	22,5	1,5	97,7
8	R 2 %	0,06	7,5	1,5	97,7
	HCP _{0,05}			4,1	8,7

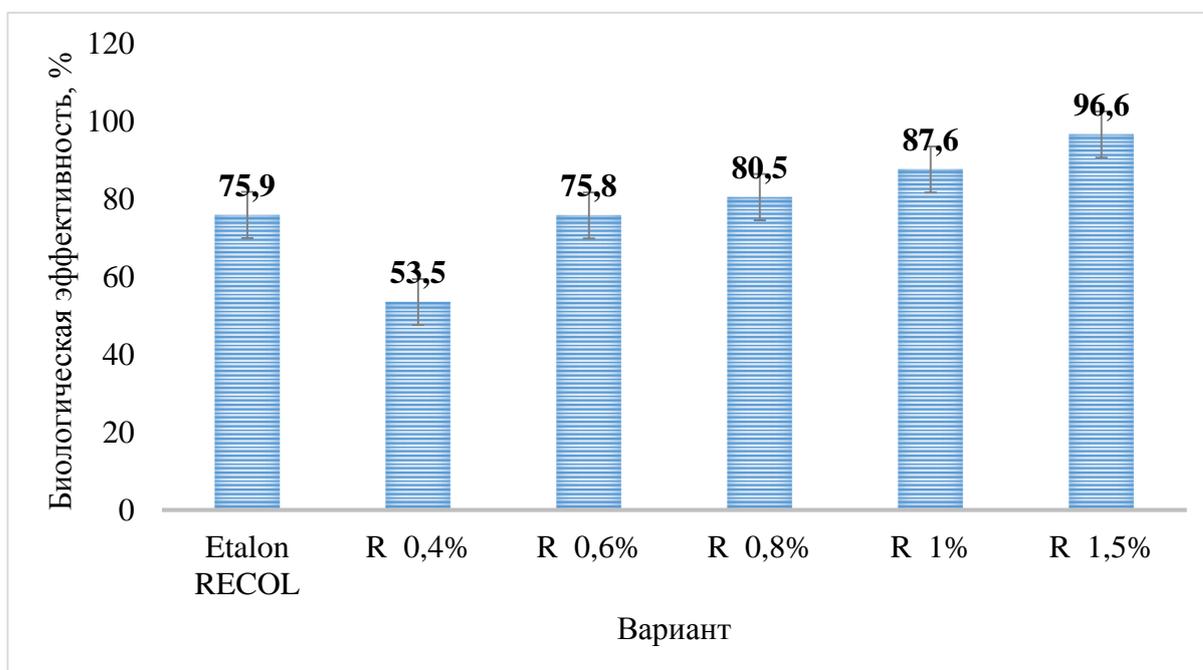


Рис. 4.3. Средние значения биологической эффективности экстракта корня ревеня (R) на рассаде *Cucumis melo* L. и *Cucurbita pepo* L. в контроле мучнистой росы (HCP_{0,05}=9,1)

Полученные результаты соотносятся с исследованиями ученых, которые утверждали, что ингибирование прорастания спор зависит от концентрации экстракта [140]. Анализ листьев, профилактически обработанных экстрактом ревеня, с использованием жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) показал повышенный синтез фенольных кислот, которые были связаны с индуцированной резистентностью в интенсивном подавлении болезни мучнистой росы. Также, авторами было установлено, что антрахинонпроизводные обеспечивают контроль мучнистой росы на бахчевых культурах, главным образом, вызывая накопление фунгицидных фенольных соединений в растении [225]. Опытным путем было доказано, что экстракт корня ревеня ингибирует прорастание спор (непосредственное действие), а также активирует иммунный ответ широкого спектра действия (индуктор резистентности). Локально индуцированные защитные реакции, которые ограничивают патогенные инфекции, характеризуются комплексом реакций гиперчувствительности (HR), который вызывает некроз и гибель клеток, чтобы ограничить рост патогена. Кольцо из отмершей ткани вокруг развивающегося поражения делает его полностью невосприимчивыми к последующей инфекции (индуцированная резистентность) [74-76].

4.3.1. Определение модулирующего действия экстракта корня *Rheum rharonticum* 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 отн. ед.). В контроле индекс составляет 119,2 отн. ед. При увеличении концентрации до 2% – индекс хлорофилла опускается ниже контрольных значений в 1,2 раза (98,4 отн. ед.).

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. Это явление объясняется тем, что конденсат водяных паров, оседая на поверхности листьев, растворяет остатки экстракта и стекает к краям листа. При этом на краях листа образуется перенасыщенный раствор фенольных веществ, и растение реагирует на него резким снижением количества хлорофилла (Рисунок 4.4).

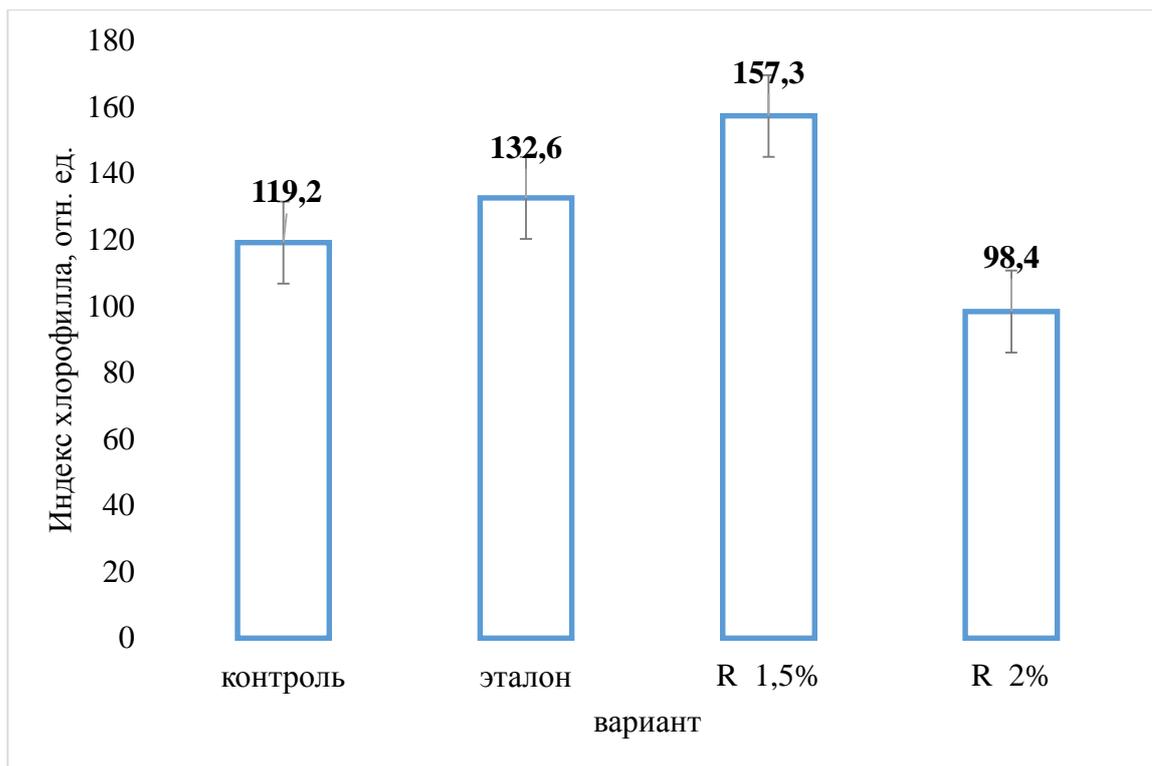


Рис. 4.4. Индекс хлорофилла в листьях рассады дыни после обработки препаратами из корня ревеня (R)

Таким образом, было установлено, что оптимальная концентрация экстракта корня ревеня для подавления развития мучнистой росы и повышении 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%.

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 (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}) в хелатной форме, для обработки рассады тыквенных культур в закрытом грунте. Целью выбранной методики было, не только определение непосредственного фунгицидного действия композиций на конидии мучнистой росы (обработка за 4 часа до заражения), но и иммунной устойчивости к мучнистой росе листьев (обработка за 3 суток до заражения).

Наши исследования были направлены на определение фунгицидного и иммуностимулирующего действия экстракта корня ревеня отдельно, и в сочетании с

микроэлементами, для защиты рассады тыквенных культур от мучнистой росы. Необходимо было решить следующие задачи:

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

В нашей работе были исследованы 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%). Дозы микроэлементов малы, в сравнении с их долей в общепринятых фунгицидных растворах (медный купорос – 10 г/литр). В одном литре рабочего раствора было 0,3 мг Cu^{2+} ; 0,1 мг микроэлементов (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+}); 2мл этанола.

Обработки рассады тыквенных культур (тыква, дыня, кабачок, огурец) значительно снизили развитие мучнистой росы, тогда как на контрольных растениях болезнь быстро развивалась. Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что фунгицидная активность экстракта корня ревеня достаточно высока. Биологическая эффективность чистого экстракта корня ревеня в концентрациях 1,0-1,5% была стабильно выше эталонных значений при обоих интервалах между обработкой и инфицированием. Фунгицидные и иммуностимулирующие свойства экстракта корня ревеня (V5 и V6) надежно защитили все виды рассады овощных культур сем. *Cucurbitacea* в нашем опыте с использованием искусственного заражения мучнистой росой.

Установлено, что наименьшая эффективность экстракта корня ревеня с микродозами меди наблюдалась на растениях кабачка (50,0%), при обработке за 72 часа до заражения. Рассада кабачка проявила индивидуальную чувствительность к добавлению микродоз меди. Значения биологической эффективности обработок в других вариантах четырех видов рассады были сопоставимы (Таблица 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

Таблица 4.7. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде кабачка (*Cucurbita pepo* L.)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Интервал 72 часа					
1	Контроль	1,4	57,5	35,0	
2	Эталон	0,2	17,5	5,0	85,7
3	V1	0,7	42,5	17,5	50,0
4	V2	0,7	50,0	17,5	50,0
5	V3	0,2	25,0	5,0	85,7
6	V4	0,2	17,5	5,0	85,7
7	V5	0,1	17,5	2,5	92,9
8	V6	0,1	17,5	2,5	92,9
	HCP _{0,05}			3,9	11,8
Интервал 4 часа					
1	Контроль	1,7	50,0	42,5	
2	Эталон	0,2	7,5	5,0	88,2
3	V1	0,02	0	0,5	98,8
4	V2	0,02	0	0,5	98,8
5	V3	0,1	17,5	2,5	94,1
6	V4	0,1	7,5	2,5	94,1
7	V5	0,2	0	5,0	88,2
8	V6	0,02	0	0,5	98,8
	HCP _{0,05}			6,3	8,7

Обработка рассады за 4 часа до заражения композициями, содержащими экстракт 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%). В подтверждение нашего предположения, что добавка микродоз меди усилит фунгицидные свойства экстракта корня ревеня, было установлено, 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 мучнистой росы (89,3-92,2%) выше, чем при обработке за 72 часа (63,0-63,6%). Однако, те же варианты при обработке за 72 часа до заражения продемонстрировали биологическую эффективность у рассады кабачка – 50,0%; у рассады дыни – 43,8%; рассады тыквы – 50,0%; у рассады огурца 66,7%, что ниже эталонных значений. Следовательно, добавка микродоз меди к экстракту ревеня снизила иммуностимулирующую активность композиции.

Таблица 4.8. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде огурца (*Cucumis sativus* L.)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Интервал 72 часа					
1	Контроль	0,6	35,0	15,0	
2	Эталон	0,2	10,0	5,0	66,7
3	V1	0,1	10,0	2,5	83,3
4	V2	0,2	17,5	5,0	66,7
5	V3	0,06	5,0	1,5	90,0
6	V4	0,03	5,0	0,8	94,7
7	V5	0,03	5,0	0,8	94,7
8	V6	0,06	5,0	1,5	90,0
	HCP _{0,05}			3,9	10,7
Интервал 4 часа					
1	Контроль	0,5	40,0	12,5	
2	Эталон	0,05	2,5	1,3	90,0
3	V1	0,06	5,0	1,5	88,0
4	V2	0,05	5,0	1,3	90,0
5	V3	0,1	7,5	2,5	80,0
6	V4	0,1	7,5	2,5	80,0
7	V5	0,02	2,5	1,3	90,0
8	V6	0,02	2,5	1,3	90,0
	HCP _{0,05}			2,3	10,2

В то же время было установлено, что композиция экстракта корня ревеня с микроэлементами Zn²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺, B³⁺ (V3 и V4) усилила иммуностимулирующий эффект обработок (листовая подкормка). Значения 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 против 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 недостаточных концентрациях фунгицидного экстракта корня ревеня, попадание на листья питательных микроэлементов поддерживает развитие инфекции.

Таблица 4.9. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде дыни (*Cucumis melo* L.)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Интервал 72 часа					
1	Контроль	1,6	67,5	40,0	
2	Эталон	0,2	25,0	5,0	87,5
3	V1	0,9	50,0	22,5	43,8
4	V2	0,2	32,5	5,0	87,5
5	V3	0,1	17,5	2,5	93,8
6	V4	0,1	17,5	2,5	93,8
7	V5	0,06	7,5	1,5	96,3
8	V6	0,06	7,5	1,5	96,3
	HCP _{0,05}			1,9	8,6
Интервал 4 часа					
1	Контроль	1,1	67,5	27,5	
2	Эталон	0,2	25,0	5,0	81,8
3	V1	0,05	7,5	1,3	95,3
4	V2	0,2	17,5	5,0	81,8
5	V3	0,2	32,5	5,0	81,8
6	V4	0,2	17,5	5,0	81,8
7	V5	0,05	7,5	1,3	95,3
8	V6	0,05	7,5	1,3	95,3
	HCP _{0,05}			1,8	11,3

Необходимо отметить, что биологическая эффективность чистого экстракта корня ревеня в концентрациях 1,0-1,5% была стабильна при обоих вариантах заражения и составила в среднем значении 90,1-92,0%, что выше эталонных значений на 8%. Эти значения выше, чем показатели эффективности композиций с добавлением микроэлементов и эталона (на 8%). Фунгицидные и иммуностимулирующие свойства экстракта корня ревеня (V5 и V6) надежно защитили все виды рассады овощных культур сем. *Cucurbitacea* от мучнистой росы.

Наши исследования по определению влияния сочетания экстракта корня ревеня с микроэлементами доказали, что добавление микродоз меди усиливает быстродействующие фунгицидные свойства экстракта, а микроэлементы – усиливают иммуностимулирующие свойства. Но, при недостаточной концентрации фунгицидного экстракта корня ревеня в композиции с микроэлементами Zn²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺, B³⁺, эффект может оказаться обратным, и развитие инфекции может усилиться.

Таблица 4.10. Биологическая эффективность композиций экстракта корня ревеня (R) с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде тыквы (*Cucurbita pepo* L.)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
Интервал 72 часа					
1	Контроль	1,2	50,0	30,0	
2	Эталон	0,2	25,0	5,0	83,3
3	V1	0,3	25,0	7,5	75,0
4	V2	0,6	57,5	15,0	50,0
5	V3	0,1	17,5	2,5	91,7
6	V4	0,1	7,5	2,5	91,7
7	V5	0,05	7,5	1,3	95,7
8	V6	0,05	7,5	1,3	95,7
	HCP _{0,05}			3,9	12,4
Интервал 4 часа					
1	Контроль	1,5	67,5	37,5	
2	Эталон	0,2	25,0	5,0	86,7
3	V1	0,2	17,5	5,0	86,7
4	V2	0,2	7,5	5,0	86,7
5	V3	0,2	17,5	5,0	86,7
6	V4	0,2	17,5	5,0	86,7
7	V5	0,2	25,0	5,0	86,7
8	V6	0,06	7,5	1,5	96
	HCP _{0,05}			2,9	12,5

Обобщив результаты можно сделать заключение, что снижение дозы экстракта корня ревеня при сочетании его с микроэлементами, возможно, но не обязательно (Таблица 4.11).

Таблица 4.11. Средние значения биологической эффективности композиций на основе экстракта корня ревеня (R) в сочетании с микроэлементами в контроле мучнистой росы на рассаде культур *Cucurbitaceae*

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
HCP _{0,05}	6,7	4,9	9,5

Микроэлементы могут сделать композицию рентабельнее, но наиболее эффективную часть композиций составляют биологически активные вещества экстракта

корня ревеня. Прямое фунгицидное действие экстракта обусловлено прямым ингибированием гриба и его спор с помощью основных действующих веществ экстракта – эмолина, кверцетина. Иммуностимулирующее действие экстракта корня ревеня индуцирует резистентность растения в целом для быстрой защитной реакции после инфицирования.

4.3.3. Определение биологической эффективности экстрактов корня и листьев *Rheum raphaniticum* L. для контроля мучнистой росы на рассаде культур *Cucurbitaceae* в закрытом грунте

В продолжение исследований более тщательно были изучены все возможности использования растений *R. raphaniticum*, включая листья, которые так же, как и корни, являются побочным продуктом (отходом) от производства черешков и содержат большой спектр биоактивных веществ (фенолы, флавоноиды, органические кислоты). Опыты по изучению влияния обработки экстрактами корня и листьев ревеня были проведены с целью защиты рассады огурца сорта «Родничок» от мучнистой росы в закрытом грунте по описанной выше методике. Рассада огурца (*C. sativus*), 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%), фунгицид на основе экстракта *Reynoutria sachalinensis* L., сем. *Polygonaceae*, зарегистрированный в Молдове. Контрольные растения не обрабатывали (Рисунок 4.5).

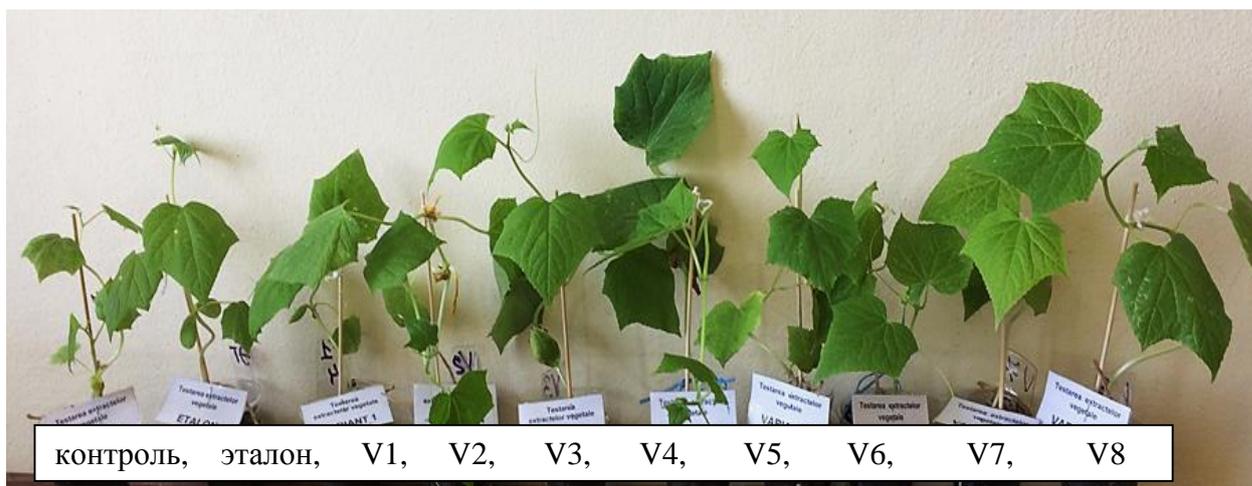


Рис. 4.5. Влияние обработки экстрактами корня и листьев ревеня на состояние рассады огурца в закрытом грунте

На основе полученных результатов была определена биологическая эффективность экстрактов *Rheum* и применена математическая обработка результатов. Данные были занесены в Таблицы 4.12, 4.13, 4.14.

Таблица 4.12. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев *Rheum rhaponticum* L. в защите от мучнистой росы на рассаде *Cucumis sativus* L. (за 4 часа до заражения)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
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

Значения биологической эффективности, достоверно (с учетом HCP_{0,05}) выше эталонных, наблюдались в следующих вариантах:

- V2 – биологическая эффективность 81,8% (экстракт листьев в концентрации 4 %, при обработке за 4 часа до заражения).

- V4 – экстракт корня ревеня в концентрации 2%, при обработке за 4 часа до заражения (90,9%), и при обработке за 72 часа до заражения (94,6%), стабильно и достоверно защищал рассаду от мучнистой росы.

- V8 – сочетание экстракта корня ревеня (концентрация 1%) с экстрактом листьев ревеня (концентрация 4%), 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.

Результаты опыта подтверждают, что композиция 1% R + 4% L не только активизирует в листьях иммунитет и развитие, но и оказывает местное, антисептическое действие на фитопатогены мучнистой росы. Листья обработанной рассады отличались более крупными размерами и интенсивной окраской, чем в контроле. Обнаружив, что фунгицидные свойства экстракта корня ревеня сочетаются со стимулирующими свойствами экстракта листьев, мы сделали заключение, что композиция является полифункциональной. Таким

образом, биоактивные вещества экстракта листьев ревеня (щавелевая кислота и кверцетин) в сочетании с основным действующим веществом экстракта корня ревеня (эмодин) оказали на организм растений рассады активное фитостимулирующее, фунгицидное и иммуностимулирующее действие.

Таблица 4.13. Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев *Rheum rhabarbaricum* L. в защите от мучнистой росы на рассаде *Cucumis sativus* L. (за 72 часа до заражения)

№	Вариант	Балл поражения	Распространенность болезни, %	Степень поражения, %	Биологическая эффективность, %
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

Средняя эффективность экстракта листьев в концентрации 4% (V2) составила 68,2%, что на 18,1% выше, чем эффективность экстракта листьев в концентрации 1%. 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 1%-ной концентрации экстракта листьев, непосредственно, перед попаданием фитопатогена на листья. Можно сделать вывод, что экстракт листьев обладает антисептическими и, в меньшей степени, иммуностимулирующими свойствами.

В условиях закрытого грунта, при использовании искусственного заражения на рассаде огурца, была подтверждена стабильная фунгицидная и иммуностимулирующая активность экстракта корня ревеня (V3 и V4) в концентрациях 1-2%, которая, снизила степень поражения рассады огурца на 17,7-26%. Было доказано, 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 (стимулирование иммунного ответа на заражение мучнистой росой) и фунгицидную активность (уничтожение конидий фитопатогена, непосредственно,

на зараженном листе). В эталоне эффективность составила, в среднем, 63,8%. В контроле степень поражения рассады мучнистой росой развивалась и составила 27,5%.

Таблица 4.14. Биологическая эффективность обработки рассады *Cucumis sativus* L. экстрактами корня (R) и листьев (L) ревеня в контроле мучнистой росы

№	Варианты	Биологическая эффективность, %		
		Обработка за 4 ч. до заражения	Обработка за 72 ч. до заражения	Среднее значение
1	Эталон (Recol, 5 %)	54,6	72,7	63,8
2	V1- 1 % L	54,6	45,5	50,1
3	V2 - 4 % L	81,8	54,6	68,2
4	V3 - 1 % R	72,7	63,6	68,2
5	V4 - 2 % R	90,9	94,6	92,8
6	V5 - 1 % R + 1 % L	54,6	36,4	45,5
7	V6 - 2 % R + 4 % L	81,8	54,6	68,3
8	V7 - 2 % R + 1 % L	94,6	72,7	83,7
9	V8 - 1 % R + 4 % L	94,6	81,8	88,2
	НСР _{0,05}	12,1	13,0	10,2

Значение биологической эффективности композиций, в которых экстракты корня и листьев ревеня находятся в наименьших концентрациях (1%), были самыми низкими: V1 – 50,1% и V5 – 45,5%. Эффективность других композиций корня и листьев ревеня (V6 – 68,3% и V7 – 83,7%) находилась в пределах эталонных значений. Однако, наблюдалось явное преимущество в значениях эффективности при интервале 4 часа, где эффективность композиции V6 была на 27,2% и композиции V7 – на 21,9% выше, чем при интервале 72 часа. Результаты опыта подтверждают, что действие указанных двух композиций является больше фунгицидным, чем иммуностимулирующим.

Обобщая весь опыт о действии различных композиций на основе экстрактов ревеня, необходимо отметить, что сочетание микродоз меди (Cu^{2+}) с экстрактом корня ревеня способствовало увеличению биологической эффективности композиции за счет усиления фунгицидного действия экстракта корня ревеня медью в защите от мучнистой росы рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца. Однако, этот положительный эффект наблюдался только в вариантах обработки составом непосредственно перед заражением. В вариантах заражения мучнистой росой через 72 часа после обработки вышеуказанным составом, эффективность была ниже эталонной. Следовательно, в этом варианте снижены иммуностимулирующие свойства. В то же время, композиция микроэлементов Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , B^{3+} с экстрактом корня ревеня индуцировала устойчивость рассады тыквы, дыни, кабачка и огурца к мучнистой росе только при обработке за 72 часа до заражения, проявив иммуностимулирующие свойства.

Самую высокую иммуностимулирующую и фунгицидную активность, усиливающуюся при добавлении экстракта листьев ревеня, проявил экстракт корня *Rheum*. Его биологическая эффективность была высокой при любых интервалах между обработкой и заражением (4 и 72 часа), и была прямо пропорциональна концентрации. Добавление к экстракту корня микроэлементов (хелатов) может быть использовано для уменьшения концентрации экстракта в рабочем растворе и удешевления конечного препарата. Добавление к экстракту корня *Rheum* экстракта листьев усиливает иммуностимулирующую и фунгицидную активность композиции, в сравнении с активностью каждого из компонентов в отдельности.

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. Во-первых, экологически безопасные средства защиты позволяют уменьшить количество химических обработок культуры огурца. Создание и использование средств защиты на основе экстрактов 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*.

Химизация агропроизводства, выращивание монокультур, отсутствие фитосанитарного проектирования территорий приводит к устойчивости болезней и вредителей к средствам защиты растений. 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 фунгициду из-за высокого давления отбора. Комбинация одно- и многокомпонентных фунгицидов 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 фунгицида, что в свою очередь, уменьшает риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений штаммов.

Биологическое обоснование способности экстрактов, полученных из *R. rhaponticum*, проявлять фунгицидную, детеррентную, инсектицидную и стимулирующую типы

активности привело к разработке композиций на основе экстрактов корня и листьев ревеня, которые проявляют значительную биологическую эффективность для стимуляции прорастания семян, контроля фитопатогенов (*Fusarium* и *Sphaerotheca*) и вредителей (*Aphididae*, *Sitotroga*). 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. (Рисунки 4.6, 4.7).



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



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

4.5. Выводы к главе 4

1. Установлено, что в лабораторных условиях экстракт корня *Rheum rhaponticum* в концентрациях выше 10% обладает прямым фунгицидным действием в отношении фитопатогенов кукурузы *Fusarium graminearum* и *Fusarium moniliforme* и патогена сои *Fusarium sporotrichiella*. Определена композиция экстрактов корня и листьев ревеня, обладающая наибольшими 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 [210, 214, 216, 226, 228].

2. 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, что позволило сделать композицию более рентабельной и эффективной, чем использование чистого экстракта [228].

3. Установлена оптимальная концентрация экстракта корня ревеня в рабочем растворе (1,0-1,5%), для подавления развития мучнистой росы и повышении 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 достигает 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%) [229-233].

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

Общие выводы

1. Определены особенности выращивания растения *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 [220-224, 227], (3.1, 3.2).

2. Выявлены зоны локализации антраценпроизводных соединений в паренхиме вторичной коры и сердцевинных лучей с использованием световой микроскопии, и гистохимической реакции (раствор гидроксида натрия 33%). Разработана схема экстракции биоактивных веществ из *R. rhaponticum*, состоящая из сбора, сушки и измельчения растительного материала, смешивания с растворителем (этанол 70%), экстрагирования на водяной бане, мацерация (5-6 часов), упаривание и приготовление растворимого концентрата. 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 [216, 226], (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 [213], (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 синергетическая 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 [230], (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, что позволило сделать композицию более рентабельной и эффективной, чем использование чистого экстракта [214, 216, 228], (4.2.)

6. Установлена оптимальная концентрация экстракта корня ревеня в рабочем растворе (1,0-1,5%) для подавления развития мучнистой росы и повышении 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 в интервале 4 и 72 часа до заражения, достигает 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 %) [229-234], (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 синергизма между несколькими продуктами (экстракт корня, экстракт листьев, микроэлементы), и риск развития устойчивости к пестицидам среди патогенных для растений организмов уменьшается.

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. UI-JIN, BAEA et al. Emodin isolated from *Rheum palmatum* prevents cytokine-induced β -cell damage and the development of type 1 diabetes. In: *Journal of Functional Foods*. 2015, vol. 16, pp. 9-19. ISSN 1756-4646.
4. BAVARESCO, L. Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. In: *Drugs Under Experimental and Clinical Research*. 2003, vol. 29, pp. 181-187. ISSN 0378-6501.
5. DELMAS, D. et al. Resveratrol as a chemo preventive agent: a promising molecule for fighting cancer. In: *Current Cancer Drug Targets*. 2006, vol. 7, p. 423-442. ISSN 15680096.
6. DAS, D., MAULIK, N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative. In: *Molecular Interventions*. 2006, vol. 6, nr. 1, pp. 36-47. ISSN 15340384.
7. MATSUDA, H. Anti-allergic activity of stilbenes from Korean rhubarb (*Rheum undulatum* L.): structure requirements for inhibition of antigen-induced degranulation and their effects on the release of TNF-alpha and IL-4 in RBL-2H3 cells. In: *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2004, vol. 12, nr. 18, pp. 4871-4876. ISSN 14643391.
8. ФИЛОНОВА, О. В. Технология комплексной переработки ревеня. В: *Известия вузов, Пищевая технология*. 2005, № 5-6, с. 67-69. ISSN 0579-3009.
9. КАЦЕРИКОВА, Н. В. Научные и практические основы технологии натуральных продуктов питания с использованием красящих экстрактов из растительного сырья. автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора технических наук. Москва, 2003, 403 с.
10. 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. (просмотрено 03.11.2015). Available online: <https://www.kobe12sl.com/wp-content/uploads/2014/10/Efficacy-Report-2.pdf>
11. RAJKOVIC, S. et al. VEGard – botanical fungicide. In: *IV International Symposium „Agrosym“*. 2013, p. 511-516. ISBN 9789995575137.

12. ЗАЙЦЕВА, Н. В. Фармакогностическое исследование и стандартизация корней щавеля конского (*Rumex confertus* Willd.). Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук. Самара, 2014, 140 с.
13. ШМЫГАРЕВА, А.А. Экспериментально-теоретическое обоснование подходов к стандартизации сырья и лекарственных препаратов фармакопейных растений, содержащих антрагликозиды. Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук, Самарский Государственный Медицинский Университет. Самара, 2017, с. 149-153.
14. European Pharmacopoeia. 7th edition. Strasbourg: EDQM, 2011. (просмотрено 23.10.2017). Available online: https://archive.org/stream/EuropeanPharmacopoeia80/European-Pharmacopoeia-8-0_djvu.txt
15. European Pharmacopoeia. 8th edition. Strasbourg: EDQM, 2013. (просмотрено 23.10.2017). Available online: http://www.fptl.ru/biblioteka/farmakopei/evropeyskaya_farmakopeya_8_vol-1.pdf
16. Государственная фармакопея Российской Федерации XIII издание. Москва, 2015. Федеральная электронная медицинская библиотека. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.femb.ru/feml> (просмотрено 04.05.2017)
17. БОБЕЙКЭ, В. Фармакогнозия. Анализ лекарственного растительного сырья. Учебно-методическое пособие. Кишинэу, СЕР USM, 2007, 100 с.
18. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. Москва: Стандартинформ, 2011, 219 с.
19. ГОСТ 12044-93. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения зараженности болезнями. Москва: Издательство стандартов, 2004, 219 с.
20. Межгосударственный стандарт 1986-07-01. Семена сельскохозяйственных культур. Методы анализа: Сборник ГОСТов. Москва: ИПК Издательство стандартов, 2004, 47 с.
21. HAI, S., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 8889197, 2014, Marrone Bio Innovations Incorporation, (просмотрено 03.01.2016). Available online: <http://patents.justia.com/patent/8889197>
22. HAI, S., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 8883227, 2014, Marrone Bio Innovations Incorporation, (просмотрено 05.12.2017). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>
23. HAI, S., MARRONE, P. Compositions Containing Anthraquinone Derivatives as Growth Promoters and Antifungal Agents, Patent number: 20140116307, 2014, Marrone Bio

- Innovations Incorporation, (просмотрено 03.07.2016). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>
24. ТОРОПОВА, Е.Ю., КИРИЧЕНКО, А.А. Фитосанитарный экологический мониторинг: Методические указания. Новосибирск, 2012, 38 с. ISBN 978-5-94477-115-5.
 25. 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.
 26. БЁТТХЕР, И. и другие. Методы определения болезней и вредителей сельскохозяйственных растений. Москва: Агропромиздат, 1987, 224 с.
 27. ЗЕЗЮЛИНА, Г. А. Фитопатология. Методические указания. Гродно, 2003, 40 с. ISBN 978-985-7168-25-5.
 28. Îndrumări metodice pentru testarea produselor chimice și biologice de protecție a plantelor de dăunători, boli și buruieni în Republica Moldova” Sub redacția generală a doctorului în științe Ion Lazari. Chișinău, 2002, 286 p. ISBN 9975-9597-3-3.
 29. ДОСПЕХОВ, Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Москва: Агропромиздат. 1985. 351 с. ISBN 978-5-458-23540-2.
 30. РЯЗАНОВА, Л.Г. Основы статистического анализа результатов исследований в садоводстве. Учебно-методическое пособие. Краснодар: КубГАУ, 2013, 61 с.
 31. ЖУЧЕНКО, А.А. Адаптивное растениеводство (экологические основы). Теория и практика. М.: Агрорус, 2008. Т. 1, 814 с. ISBN 978-5-903413-01-1.
 32. ЖУЧЕНКО, А.А. Адаптивное растениеводство (экологические основы). Теория и практика. М.: Агрорус, 2009. Т. 2, 1098 с. ISBN 978-5-903413-08-9.
 33. ЖУЧЕНКО, А.А. Адаптивное растениеводство (экологические основы). Теория и практика. М.: Агрорус, 2009. Т. 3, 958 с. ISBN 978-5-903413-11-9.
 34. ПАВЛЮШИН, В.А. Проблемы фитосанитарного оздоровления агроэкосистем. В: *Вестник защиты растений*. 2011, №2, с. 3-38. ISSN 1727-1320.
 35. ШПААР, Д. Зерновые культуры. Распространение основных грибных и бактериальных возбудителей болезней зерновых колосовых в России. М.: ИД ООО «DLV АГРОДЕЛО», 2008, Т. 2, с. 343-372. ISBN 978-5-903209-06-4.
 36. НИЖАРАДЗЕ, Т.С. Сравнительная оценка влияния физических, химических и биологических методов предпосевной обработки семян на устойчивость к болезням, развитие и продуктивность зерновых культур в лесостепи Среднего Поволжья.

- Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Кинель, 2004, 241 с.
37. ПАВЛЮШИН, В.А. Антропогенная трансформация агроэкосистем и ее фитосанитарные последствия. СПб.: РАСХН, ВИЗР, Русское Энтомолог. Общество, 2008, 120 с.
 38. LOZOVAYA, V.V. et al. Cell wall-bound phenolics in cells of maize (*Zea mays*, *Gramineae*) and buckwheat (*Fagopyrum tataricum*, *Polygonaceae*) with different plant regeneration abilities. In: *Plant Science*. 2000, vol.152, pp.79-85. ISSN 0168-9452.
 39. БАЯНДИНА, И.И., ЗАГУРСКАЯ, Ю.В. Экологические условия и накопление фенольных соединений в лекарственных растениях. В: *Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы, Материалы I Международной научной конференции*. Новосибирск: Государственный аграрный университет, Изд-во НГАУ, 2013, 130 с. ISBN 978-5-94477-130-8.
 40. ВАЛИЕВА, А.И., АБДРАХИМОВА, Й.Р. Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты. В: Часть 3. Фенольные соединения. Учебно-методическое пособие. Казань: Казанский Федеральный университет, 2010, 40с.
 41. РУМЯНЦЕВА, Н.И. Вторичные метаболиты растений: физиологические и биохимические аспекты. В: Часть 3. Фенольные соединения: Учебно-методическое пособие. Казань: Регентъ, 2001, 42 с.
 42. WALTERS, D. Induced Resistance for Plant defense: a sustainable approach to crop protection. Oxford, 2007, 251 p. ISBN 978-1-4051-3447-7.
 43. ТЮТЕРЕВ, С. Экологически безопасные индукторы устойчивости растений к болезням и физиологическим стрессам. В: *Вестник защиты растений*. 2015, №83, с. 3-13.
 44. LATTAZIO, V. Phenolic compounds: introduction. In: *Ramawat KG, Mérillon JM (eds): Natural products. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg*. 2013, pp. 1543-1580. ISSN 2308-6459.
 45. MOURADOV, A., SPANGENBERG G. Flavonoids: a metabolic network mediating plants adaptation to their real estate. In: *Front Plant*. 2014, nr.5, 620 p. ISSN 1664-462X.
 46. GASSMANN, A., LEVY, A. Adaptations of an insect to a novel host plant: a phylogenetic approach. In: *Functional Ecology*. 2006, nr. 20, pp. 478-485. ISSN 1365-2435.
 47. GIRON, D. et al. Insect-induced effects on plants and possible effectors used by galling and leaf-mining insects to manipulate their host-plant. In: *Journal of Insect Physiology*. 2016, nr. 84, pp. 70-89. ISSN 00221910.

48. THORSTEINSON, A. J. Host Selection in Phytophagous Insects. In: *Annual Review of Entomology*. 1960, vol. 5, pp. 193-218. ISSN 1545-4487.
49. EHRLICH, P.R., RAVEN, P.H. Butterflies and Plants: A Study in Coevolution. In: *Evolution*, 1964, vol. 18, nr. 4, pp. 586-608. ISSN: 00143820.
50. ZAGROBELNY, M. et al. Cyanogenic glucosides and plant-insect interactions. In: *Phytochemistry*, 2004, nr. 65, pp. 292-293. ISSN 00319422.
51. AGATI, G., TATTINI, M. Multiple functional roles of flavonoids in photoprotection. In: *New Phytologist*. 2010, nr. 186, pp. 786-793. ISSN 1469-8137.
52. AGATI, G. et al. Functional roles of flavonoids in photoprotection. In: *New evidence, lessons from the past, Plant Physiology and Biochemistry*. 2013, nr. 72, pp. 35-45. ISSN 0981-9428.
53. WEN-TING, TANG et al. Simultaneous Quantitative and Qualitative Analysis of Flavonoids from Ultraviolet-B Radiation in Leaves and Roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi Using LC-UV-ESI-Q/TOF/MS. In: *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2014, pp. 8-9. ISSN 20908865.
54. FIELD, T.C. et al. Why leaves turn red in autumn. The role of anthocyanins in senescing leaves of red-osier dogwood. In: *Plant Physiology*. 2001, vol.127, pp. 566-574. ISSN 15322548.
55. WINKEL. S. Biosynthesis of flavonoids and effects of stress. Current Opinion. In: *Plant Biology*. 2002, nr. 5, pp. 218. ISSN 14358603.
56. AGATI, G. et al. Mesophyll distribution of 'antioxidant' flavonoid glycosides in *Ligustrum vulgare* leaves under contrasting sunlight irradiance. In: *Oxford Journals, Annals of Botany*. 2009, vol. 104, issue 5, pp. 853-861. ISSN 10958290.
57. AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. In: *Plant Science*. 2012, nr. 196, pp. 67-76. ISSN 2158-2742.
58. LOGEMANN, E. et al. UV light selectively coinduces supply pathways from primary metabolism and flavonoid secondary product formation in parsley. In: *Proc Natl Acad sci impact factor U S A*. 2000, vol. 97, nr. 4, pp. 1903-1907. ISSN 0027-8424.
59. LATTANZIO, V. et al. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects. In: *Phytochemistry (Advances in Research)*. 2006, pp. 23-67. ISSN 0031-9422.
60. LUNAU, K. The ecology and evolution of visual pollen signals. In: *Plant Systematics and Evolution*. 2000, vol. 222, nr. 4, pp. 89-111. ISSN 16156110.
61. ЕФИМОВА, С.С. Влияние флавоноидов на каналобразующую активность токсинов и антимикробных агентов в липидных бислоях: автореферат. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Санкт-Петербург, 2013, 107 с.

62. QUINA, F. et al. Photochemistry of anthocyanins and their biological role in plant tissues. In: *Pure and Applied Chemistry*. 2009, vol. 81, nr. 9, pp. 1687-1694. ISSN 0033-4545.
63. MANDAL, S.M. et al. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. In: *Plant Signal Behavior*. 2010, vol. 5, nr. 4, pp. 359-368. ISSN 15592316.
64. CARETTO, S. et al. Carbon Fluxes between primary metabolism and phenolic pathway in plant tissues under stress. In: *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, nr. 16, pp. 26378-26394. ISSN 1422-0067.
65. HARBORNE, J. Photochemistry method, a guide to modern techniques of plant analysis. London UK: Chapman & Hall, 1998, 83 p. ISBN 0412105403.
66. FAROOQ, M. et al. Application of Allelopathy in crop production. In: *International Journal of Agriculture and Biology*. 2013, vol. 15, nr. 6, pp. 1367-1378. ISSN 1814-9596.
67. HARMS, C., OPLINGER, E. Plant Growth Regulators: Their Use Crop Production. North Central Region Extension Publication, NCR 303. U. S Department of Agriculture Cooperative State Research Service. Wisconsin, 2013, (просмотрено 12.07.2015). Available online: <http://www.extension.umn.edu/nutrientmanagement/.../NCREP-303-1.pdf>
68. KANDHRO, M. N. et al. Effect of Allelopathic Water Extract of Sorghum and Sunflower on Weed Mortality and Cotton Yield. In: *Sarhad Journal of Agriculture*. 2015, vol. 31, nr. 3, pp. 165-174. ISJN 7758-2463.
69. SAXENA, R., SINGH, R., KUMAR, M. Allelopathy: A Green Approach for Weed Management and Crop Production. In: *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology (IJCRBP)*. 2016, vol. 3, nr. 4, pp. 43-50. ISSN 2349-8080.
70. ISLAM, R. Allelopathy: its role, recent developments and future prospects. In: *International Journal of Institutional Pharmacy and Life Sciences*. 2016, vol. 6, nr 1, pp. 17-18. ISSN 2249 – 6807.
71. PHIRI, C. Influence of *Moringa oleifera* leaf extract on germination and early seedling development of major cereals. In: *Agriculture and Biology Journal of North America*. nr. 1, 2010, pp. 774-777. ISSN 0021-8596.
72. CASTILLO, F. et al. Antifungal Properties of Bioactive Compounds from Plants. In: *Fungicides for Plant and Animal Diseases*. 2012, pp. 81-106. ISBN 978-953-307-804-5.
73. MURUGAN, T. et al. Antimicrobial Activity and Phytochemical Constituents of Leaf Extracts of *Cassia auriculata*, In: *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013, Vol. 75, nr. 1, pp. 122–125. ISSN 0250-474X.
74. DIXON, R., PAIVA, N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. In: *The Plant Cell*. 1995, vol. 7, pp. 1085-1097. ISSN 1040-4651.

75. QING-MING, GAO et al. Signal regulators of systemic acquired resistance. In: *Frontiers in Plant Science*. 2015, vol. 6, pp. 227-228. ISSN 1664-462X.
76. HIDEYUKI, SUZUKI et al. Signals for local and systemic responses of plants to pathogen attack. In: *Journal of Experimental Botany*. 2004, vol. 55, nr. 395, pp. 169-179. ISSN 0022-0957.
77. BISHOP, J.G. et al. Rapid evolution in plant chitinases: Molecular targets of selection in plant-pathogen coevolution. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000, vol. 9; issue 97, nr. 10, pp. 5322-5327. ISSN 1091-6490.
78. RADOTI, K., JEREMI, M. Two pathways of lignin synthesis: a comparative study. In: *Iugoslavica physiologica et pharmacologica acta*. 1998, vol.34, pp. 491-501. ISSN 0031-949X.
79. FERNÁNDEZ-APARICIO, M. et al. Characterization of resistance mechanisms to powdery mildew (*Erysiphe betae*) in beet (*Beta vulgaris*). In: *The American Phytopathological Society*. 2009, vol. 99, nr. 4, pp. 384-385. ISSN 0031-949X.
80. FU ZQ, DONG X., Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. In: *Annual Review of Plant Biology*. 2013, vol. 64, pp. 839-63. ISSN 1545-2123.
81. BOERJAN, W., RALPH J., BAUCHER M. Lignin biosynthesis. In: *Annual Review of Plant Biology*. 2003, vol. 54, pp. 519-46. ISSN 1545-2123.
82. DURRANT, W.E., Dong X. Systemic acquired resistance. In: *Annual Review of Phytopathology*. 2004, vol. 42, pp. 185-209. ISSN 0066-4286.
83. POLLASTRI, S., TATTINI, M. Flavonols: old compounds for old roles. In: *Annals of Botany*. 2011, vol. 108, pp. 1225-1233. ISSN 1095-8290.
84. ЗАЙЧИКОВА, С.Г. Ботаника. Москва: ГЭОТАР Медиа, 2013, с.11-12.
85. ВЫСОЧИНА, Г.И. Фенольные соединения в систематике и филогении семейства гречишных: Polygonaceae Juss. В: *Центральный сибирский ботанический сад СО РАН*. Новосибирск, 2002, 31 с. ISBN 978-5-9704-2491-9.
86. RASHID, S. et al. Medicinal importance of genus *Rheum*. A review. In: *International Journal of Advanced Research*. 2014, vol. 2, nr. 7, pp. 261-267. ISSN 2320-5407.
87. РОМАНОВА, А.С. Химическое изучение производных антрацена ревеня тангутского (*Rheum palmatum* L. var. *tanguticum*. Maxim) и изыскание растительных источников получения хризаробина. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата химических наук. Москва, 1965, с. 9.

88. REHMAN, H. et al. *Rheum emodi* (Rhubarb): A Fascinating Herb. In: *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014; vol. 3, nr. 2, pp. 89-94 ISSN 2278-4136 ISSN 2278-4136.
89. SCHLOSSBERGER и DÖPPING. Warren de la Rue Muller. In: *Journal of the Chemical Society*. 1911, vol. 99, nr. 1, pp. 1915-1956. ISSN 1520-5126.
90. GAO, L. et al. Chemical Constituents in *Rheum tanguticum*. In: *Chinese Traditional and Herbal Drugs*. 2011, vol. 42, nr. 3, pp. 443-446. ISSN: 02532670.
91. QING-XIA. et al. Review of Rhubarbs: Chemistry and Pharmacology. In: *Chinese Herbal Medicines*. 2013, vol. 5, nr. 1, pp. 9-32. ISSN 20956975.
92. Aaviksaara, A. et al. Hydroxystilbenes in the roots of *Rheum rhaponticum*. In: *Proceedings Estonian Academy of Sciences. Chemistry*. 2003, vol. 52, nr. 3, pp. 99–107. ISSN 1406-0124.
93. PÜSSA, T. et al. Polyphenolic composition of roots and petioles of *Rheum rhaponticum* L. In: *Phytochemical Analysis*. 2009, vol. 20, pp. 98-103. ISSN 09580344.
94. КОСТИКОВА, В.А., ВЫСОЧИНА, Г.И., ПЕТРУК, А.А. Особенности накопления флавоноидов в органах надземной части *Rheum compactum*. В: *Химия растительного сырья*. 2015, №4, с. 147-150. ISSN 1029-5143.
95. МАТВЕЕНКО, Т.И. Курс лекций: Основы токсикологии. Хабаровск: Издательство ТОГУ, 2006, с. 89. (просмотрено 14. 09. 2018). Режим доступа: <https://docplayer.ru/26581588-T-i-matveenko-kurs-lekciy-osnovy-toksikologii.html>
96. CIPOLLINI, M. Secondary metabolites of vertebrate-dispersed fruits: evidence for adaptive functions. In: *Revista Chilena de Historia Natural*. 2000, vol. 73, pp. 421-440. ISSN 07176317.
97. WINK, M. Biochemistry of plant secondary metabolism. In: *Annual plant reviews*. 2010, vol. 40, 434 p. ISSN 1545-2123.
98. IDO IZHAKI. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. In: *New Phytologist*. 2002, vol. 155, pp. 205-217. ISSN: 1469-8137.
99. CIPOLLINI, M.L., Levey D.J. Secondary metabolites of fleshy vertebrate dispersed fruits: adaptive hypotheses and implications for seed dispersal. In: *American Naturalist*. 1997, vol. 150, pp. 346-372. ISSN 0003-0147.
100. Patent US4602004 A. Inventor Maurice Cohen. Aloin and aloe-emodin containing pesticides. Pub.№ US06620506, Date 1984-06-14 (просмотрено 12.11.2014). Available online: <http://www.google.com.ar/patents/US4602004>.

101. MEHRABADI, M. et al. α -amylase activity of stored products insects and its inhibition by medicinal plant extracts. In: *Journal of Agricultural Science and Technology*. 2011, vol. 13, pp. 1173-1182. ISSN 0021-8596.
102. GOULD, K., LISTER, C. Flavonoid functions in plants. In: *Flavonoids Chemistry, Biochemistry, and Applications*. CRC Press LLC: Boca Raton, FL, USA, 2006, pp. 397-443. ISBN 9780849320217.
103. MALLIKARJUNA, N. et al. Influence of foliar chemical compounds on the development of *Spodoptera litura* in interspecific derivatives of groundnut. In: *Journal of Applied Entomology*. 2004, nr. 128, pp. 321-328. ISSN: 09312048.
104. SELIN-RANI et al. Toxicity and physiological effect of quercetin on generalist herbivore, *Spodoptera litura* Fab. and a non-target earthworm *Eisenia fetida* Savigny. In: *Chemosphere*. 2016, vol. 165, pp. 257-267. ISSN 1879-1298.
105. XIAO-YUN WANG et al. Inhibitory kinetics of quercetin on phenoloxidase from loopworm. In: *Insect science*. 2005, vol. 12, nr. 6, pp.435-441. ISSN 1744-7917.
106. QASEM, J., FOY, C. Weed Allelopathy, its ecological impacts and future prospects. In: *Journal of Crop Production*. 2001, vol. 4, nr. 2, pp. 43-119. ISSN 1092-678X.
107. HASAN, H. Studies on toxigenic fungi in roasted food stuff (salted seed) and halotolerant activity of emodin-producing *Aspergillus wentii*. In: *Folia Microbiologica*. 1998, vol. 43, pp. 383-391. ISSN 0015-5632.
108. INOUE, N. et al. Allelochemicals from *Polygonum sachalinense* Fr, Schm. (*Polygonaceae*). In: *Journal of Chemical Ecology*. 1992, vol. 18, pp. 1833-1840. ISSN 1573-1561.
109. NORTHUP, R.R. et al. Effects of plant polyphenols on nutrient cycling and implications for community structure. In: *Inderjit, Dakshini KMM, Foy CL, eds. Principles and practices in plant ecology allelochemical interactions*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 1999, pp. 369-380. ISBN 0-84932116-6.
110. INDERJIT, I., NISHIMURA H. Effects of the anthraquinones emodin and physcion on availability of selected soil inorganic ions. In: *Annals of Applied Biology*. 1999, vol. 135, pp. 425-429. ISSN: 0003-4746.
111. OTUSANYA, O., ILORI, O. Studies on The Allelopathic Effects of *Tithonia rotundifolia* on the Germination and Seedling Growth of Some Legumes and Cereals. In: *International Journal of Biology*. 2014, vol. 6, nr. 1, pp. 38-47. ISSN 1449-2288.
112. RICE, E.L. Allelopathy. 2nd edn. Orlando, FL, USA: Academic Press, Incorporated, 2012, 368 p. ISBN 9780080925394.

113. ZHOU Lei. et al. Antibacterial mechanism of emodin on *Staphylococcus aureus*. In: *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2011, vol. 27, nr. 12, pp. 1155-1159. ISSN 1007-7626.
114. MAGDA, M., NEHAD, M. Gumgumjee. Antimicrobial efficacy of *Rheum palmatum*, *Curcuma longa* and *Alpinia officinarum* extracts against some pathogenic microorganisms. In: *African Journal of Biotechnology*. 2011, vol. 10, nr. 56, pp. 12058-12063. ISSN 1684-5315.
115. BABU, K. et al. Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi*. In: *Phytochemistry*. 2003, vol. 62, pp. 203-207. ISSN 0031-9422.
116. BABU, J. et al. Bio efficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f. sp. *Melongenae* incitant of brinjal wilt. In: *Journal of Biotechnology & Biochemistry*. 2008, vol. 3, nr. 2, pp. 56-59. ISSN 0168-1656.
117. SINGH, U. et al. Effect of emodin isolated from *Rhamnus triquetra* on spore germination of some fungi. In: *Fitopatologia Brasileira*. 1992, vol. 17, pp. 420-422. ISSN 01004158.
118. GHORBANY, M., SALARY, M. Application of plant products to control some soil born fungal pathogens. In: *Proceedings 4th World congress on Allelopathy, Establishing the scientific base*. Australia, 2005, pp. 112-114.
119. RIBERA, A., ZUÑIGA G. Induced plant secondary metabolites for phytopathogenic fungi control: a review. In: *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 2012, vol. 12, nr. 4, pp. 893-911. ISSN 0718-9508.
120. XIAOJUN Yang et al. Efficacy of *Rheum officinale* liquid formulation on cucumber powdery mildew. In: *Crop Protection*. 2009, vol. 28, nr. 12, pp. 1031-1035. ISSN 0261-2194.
121. KEINATH, A., BOSE, V. Controlling powdery mildew on cucurbit rootstock seedlings in the greenhouse with fungicides and bio fungicides. In: *Crop Protection*. 2012, vol. 42, pp. 338-344. ISSN 0261-2194.
122. CHU, Y. et al. Effect of Chinese herb extracts on spore germination of *Oidium murrayae* and nature of inhibitory substance from Chinese rhubarb. In: *Plant Disease*. 2006, vol. 90, nr. 7, pp. 858-861. ISSN 0191-2917.
123. КАРПУН, Н.Н., ЯНУШЕВСКАЯ, Э.Б., МИХАЙЛОВА, Е.В. Механизмы формирования неспецифического индуцированного иммунитета у растений при биогенном стрессе. В: *Сельскохозяйственная биология*. 2015, том 50, № 5, с. 540-549. ISSN 2313-4836.
124. THAKUR, M., SOHAL, B. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. In: *ISRN Biochemistry*. 2013, pp. 1-10. ISSN 20907729.

125. САЛОВАРОВА, В.П. Введение в биохимическую экологию: учебное пособие. Иркутск: Издательство Иркутского государственного Университета, 2007, с. 18-26.
126. СОКОЛОВ, Ю.А. Элиситоры и их применение. В: Вестні Нацыянальнай Акадэміі Навук Беларусі, 2014, № 4, с. 109-121. ISSN 1561-8358.
127. CHRISTOPHER, J. et al. Plant Defense Priming against Herbivores: Getting Ready for a Different Battle. In: *Plant Physiology*. 2008, vol. 146, pp. 818-824. ISSN 00320889.
128. GARY, E., ROBERT, M. Systemic Acquired Resistance and Induced Systemic Resistance in Conventional Agriculture, In: *Crop Science*. 2004, vol. 44, nr. 6, pp. 1920-1934. ISSN 14350653.
129. ШАКИРОВА, Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001, 160 с. ISBN 5-75-01-0215-7.
130. GAFFNEY, T. et al. Requirement of salicylic Acid for the induction of systemic acquired resistance. In: *Science*. 1993, nr. 261, 754 p. ISSN 0036-8075.
131. JOHN, A. RYALS, et al. Systemic Acquired Resistance, In: *The Plant Cell*. 1996, vol. 8, pp. 1809-1819.
132. ПОЛИКСЕНОВА, В.Д. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата). В: Вестник БГУ, 2009, т. 2. № 1, с. 48-60. ISSN 1040-4651.
133. АЛЕКСЕЙЧУК, Г.Н., ЛАМАН, Н.А. Физиологическое качество семян сельскохозяйственных культур и методы его оценки. Минск: Право и экономика, 2005, с. 49. ISBN 978-5-6040654-5-7.
134. STEPHAN, D. et al. Evaluation of biocontrol preparations and plant extracts for the control of *Phytophthora infestans* on potato leaves. In: *European Journal of Plant Pathology*. 2005, vol. 112, issue 3, pp. 235-246. ISSN 1573-8469.
135. GODARDA, S. et al. Induction of defense mechanisms in grapevine leaves by emodin- and anthraquinone-rich plant extracts and their conferred resistance to downy mildew. In: *Plant Physiology and Biochemistry*. 2009, vol. 47, issue 9, pp. 827-837. ISSN 0981-9428.
136. MAURYAA, S. et al. Antifungal activity of etanolic extract of Archu (*Rheum emodi*) on powdery mildew (*Erysiphe cichoracearum*) and its role in the induction of resistance in balsam (*Impatiens balsamiana*). In: *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 2010, vol. 43, issue 16, pp. 1589-1595. ISSN 03235408.
137. MEENAKSHI, T., BALDEV, S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: A Review. In: *ISRN Biochemistry*. 2013, 10 p. ISSN 20907729.

138. LEA, WIESEL. et al. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. In: *Donald Danforth Plant Science Center*. USA, 2014, vol. 5, 655 p. ISSN 1664-462X.
139. KOTHARII, L., PATEL, M. Plant immunization. In: *Indian Journal of Experimental Biology*. 2004, vol. 42, nr. 3, 244 p. ISSN 0019-5189.
140. 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.
141. DALE, R. et al. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. In: *Journal of Experimental Botany*. 2013, vol. 64, nr. 5, pp. 1263-1280, ISSN 0022-0957.
142. DIETRICH, R., PLOSS, K., HEIL, M. Growth responses and fitness costs after induction of pathogen resistance depend on environmental conditions. In: *Plant Cell and Environment*, 2005. vol. 28, issue 2, pp. 211-222. ISSN 0140-7791.
143. DAAFY, F., SCHMIDTT, A., BELANGER, R. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. In: *Plant Disease*. 1995, vol. 79, pp. 577-580. ISSN 0191-2917.
144. NAMNATH, J., HAI, S. Anthraquinone containing preparations/lignin formulations, Patent number 2012106487 A1, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2012, (просмотрено 23.06.2016). Available online: <https://www.google.ch/patents/WO2012106487A1?cl=en>
145. NAMNATH, J., HAI, S. Anthraquinone containing preparations/lignin formulations, Patent number 20120196751 A1, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2012, (просмотрено 25.06.2016). <https://www.google.ch/patents/US20120196751>
146. HAI, S, MARRONE, P., Osborne J. Compositions containing anthraquinone derivatives as growth promoters and antifungal agents, Patent number: 8658567, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2014, (просмотрено 21.06.2016). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>
147. HAI, S, KOIVUNEN, M., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 20140073675, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2014, (просмотрено 13.08.2017). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>
148. HAI S, MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Patent number: 20140073675, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2014, (просмотрено

- 28.08.2016). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=2>,
149. HUAZHANG, H, CAMPBELL, B. Anthraquinone containing derivatives as biochemical agricultural products, Patent number: 9380778, 2016, Marrone Bio Innovations Incorporation, (просмотрено 20.11.2017). Available online: <http://patents.justia.com/patent/9380778>
150. HAI, S., MARRONE, P., OSBORNE, J. Compositions containing anthraquinone derivatives as growth promoters and antifungal agents, Publication number: 20120115728, Marrone Bio Innovations Incorporation, 2012, (просмотрено 13.04.2016). Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=3>,
151. HUAZHANG, HUANG, BRIAN, CAMPBELL. Anthraquinone containing derivatives as biochemical agricultural products, Publication number: 20110082215, 2011, Marrone Bio Innovations Incorporation, Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=3> (просмотрено 03.06.2015).
152. HAI, S., KOIVUNEN, M., MARRONE, P. Plant pathogen inhibitor combinations and methods of use, Publication number: 20110028500, 2011, Marrone Bio Innovations Incorporation, Available online: <http://patents.justia.com/assignee/marrone-bio-innovations?page=3> (просмотрено 04.01.2014).
153. RICHTER, E. et al. *Bremia lactucae* an Salat (*Lactuca sativa*), Welches Potenzial haben Pflanzenstärkungsmittel, In: *Journal für Kulturpflanzen*. 2010, vol. 62, nr. 8, pp. 287-298. ISSN 1867-0911.
154. WALTERS, D., PATERSON, L., HAVIS, N. Control of foliar diseases of spring barley using resistance elicitors. In: *Proceedings Crop Protection in Northern Britain*. 2010, pp. 91-96. ISSN 1664-462X.
155. HUANG, C. H. et al. Effect of application frequency and reduced rates of acibenzolar-S-methyl on the field efficacy of induced resistance against bacterial spot on tomato. In: *Plant Disease*. 2012, vol. 96, pp. 221-227. ISSN 0191-2917.
156. HILLOCKS, R. Farming with fewer pesticides: EU pesticide review and resulting challenges for UK agriculture. In: *Crop Protection*. 2012, vol. 31, pp. 85-93. ISSN 0191-2917.
157. КЛЕШНИНА, Л. Г. Природные регуляторы роста – экологические средства защиты растений. In: *Revista Botanica*. Chişinău, 2011, vol. 3, nr .3, pp. 150-160. ISSN 1857-095X.
158. ВОЙНЯК, В.И., ДАСКАЛЮК, А.П., ТОДИРАШ, В.А. Стимуляторы роста растений на винограднике. В: *Современное состояние и перспективы инноваций биометода в сельском хозяйстве: международная научная конференция*. Одесса, 2013, с. 19-20. ISBN 978-966-243-038-7.

159. ГЛАДКАЯ, А.А., ВОЛОЩУК, Л.Ф., ТОДИРАШ, В.А. Оценка фунгицидной активности экстракта из корня ревеня (*Rheum*) против мучнистой росы. В: *Защита растений в современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур: международная научно-практическая конференция*. Новосибирск, 2013, с. 103-106, ISBN 978-5-906143-19-8.
160. ЕЛИСОВЕЦКАЯ, Д.С., НАСТАС, Т.Н., ОДОБЕСКУ, В. Растительные экстракты для защиты картофеля от колорадского жука. В: *Современное состояние и перспективы инноваций биометода в сельском хозяйстве: международная научная конференция*. Одесса, 2013, с. 33-34. ISBN 978-966-243-038-7.
161. ФЛОРЯ, В.Н., МАЩЕНКО, Н.Е. Особенности онтогенеза *Valeriana officinalis* L., культивируемой в условиях республики Молдова. В: *Лекарственные растения: биоразнообразие, технологии, применение: Сборник научных статей по материалам I Международной научно-практической конференции*. Гродно: ГГАУ, 2014, с. 70–72. ISBN: 978-985-537-046-9.
162. AMODU UMORU Simeon, АКРА Abubakar. Evaluation of some plant extracts for the control of bacterial soft rot of tubers. In: *American Journal of Experimental Agriculture*. 2014, vol. 4, nr. 12, pp. 1869-1876. ISJN 7758-2463.
163. ГОСТ 33440—2015, (UNECE STANDARD FFV-40:2010), Межгосударственный стандарт ремень овощной свежий, Технические условия. Москва: Стандартинформ, 2016, 11с.
164. РСТ РСФСР 362-77. Ревень овощной свежий. Москва: Госплан РСФСР, 1987, 3 с.
165. ПРАВДИВЦЕВ, В.А. Модификатор (стимулятор) для обработки растений и способ его использования. Патент РФ № 2201079, дата публикации 27.03.2003. (просмотрено 03.08.2017)
166. СОРОЧКИН, И.Н. и другие. Регулятор роста растений., Патент РФ № 2355169. дата публикации 20.05.2009. (просмотрено 03.08.2017)
167. ВЕРЕЩАГИН, Ф.Л. и другие. Способ стимулирования растений. Патент РФ № 2267924. ЗАО СХП «Озерское», дата публикации 20.01.2006. (просмотрено 03.08.2017)
168. РОГОЖИН, В.В., ВЕРХОТУРОВ, В.В. Влияние антиоксидантов (дигоксина, кверцетина и аскорбиновой кислоты) на каталитические свойства пероксидазы хрена. В: *Биохимия*, 1998, т. 63, № 6, с. 63-68. ISSN 1608-3040.
169. МАЛЬЦЕВА, А.А., КОРЕНСКАЯ, И.М. Руководство к лабораторным занятиям по Фармакогнозии, Часть II. Воронеж: Издательско–полиграфический центр Воронежского государственного университета, 2015, с. 72-73

170. ЧУЕШОВ, В.И. и другие. Промышленная технология лекарств. электронный учебник, Харьков: Национальный фармацевтический университет, 2010, 208 с. Режим доступа: <http://ztl.nuph.edu.ua/html/medication/>
171. ГАГКАЕВА, Т.Ю. и другие. Фузариоз зерновых культур. В: *приложение к журналу «Защита и карантин растений», Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)*. 2011, № 5, 44 с. ISSN 1816-8213.
172. ДЬЯКОВ, Ю.Т. и др. Общая и молекулярная фитопатология. Москва: Общество фитопатологов, 2001, 310 с. ISBN 978-5-396-00824-3.
173. ШКАЛИКОВ, В.А., БЕЛОШАПКИНА, О.О., БУКРЕЕВ, Д.Д. Защита растений от болезней. Учебник для студентов высших учебных заведений. М.: Колос, 2010, с. 45-46. ISBN 978 -5-9532-0767-6.
174. ЛИТОВКА, Ю.А. Видовой состав и представленность грибов рода *Fusarium* на зерновых культурах (пшеница и ячмень), выращиваемых в условиях Средней Сибири, Вестник Краснодарского ГАУ. Краснодар, 2017, №6 с. 140-149. ISSN 2073-1078.
175. ГАГКАЕВА, Т.Ю., ГАВРИЛОВА, О.П., ЛЕВИТИН, М.М., Биоразнообразие и ареалы основных токсинов продуцирующих грибов рода *Fusarium*. В: *БИОСФЕРА, Сельское и Лесное Хозяйство*. 2014, т.6, №1, с. 36-45. ISSN 2077-1371.
176. ЧИКИН, Ю.А. Общая фитопатология, (часть 1). Учебное пособие, Томский госуниверситет. 2001, с. 115-119.
177. БАГИРОВА, С.Ф. и др. Фундаментальная фитопатология. Москва: Крайсанд, 2012, с. 55. ISBN 978-5-396-00406-1.
178. ЛОБОДА, Л.С. Разработка химических мер борьбы с мучнистой росой огурцов в закрытом грунте. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Киев, 1966, 20 с.
179. МИРЕНКОВ, Ю.А. и др. Интегрированная защита растений. Учебник для студентов учреждений. Минск, 2008, с. 221-230. ISBN 978-985-6847-44-1.
180. ВЕЛИКАНЬ, В.С., ГОЛУБ, В.Б., ГУРЬЕВА, Е.Л. Определитель вредных и полезных насекомых и клещей овощных культур и картофеля в СССР. Ленинград: Колос, 1982, с. 50-59.
181. СЕМЕНОВА, Н.В., ДРИЖАЧЕНКО, А.И. Экономические пороги вредности насекомых и сорных растений. Методические указания, факультет «Агротехнологий и декоративного растениеводства», Санкт-Петербург, 2011, с. 12.
182. БЕРГУН, С.А. Экологические аспекты мониторинга зеленой яблонной тли (*Aphis pomi* Deg.) в яблоневых садах центральной зоны Краснодарского края: автореферат.

- Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Ставрополь, 2004, 24 с.
183. СМИРНОВ, С.Н. Экологическое обоснование технологии мониторинга видового состава членистоногих в плодово-ягодных питомниках на северо-западе России. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, Санкт-Петербург, Пушкин, 2014, с. 32-35.
184. TREMATERRA, P. Adult dispersal of *S. cerealella* in a conventional small-farm in Southern Italy. In: *Bulletin of Insectology*. 2015, vol. 68, nr. 1, pp. 111-118. ISSN: 2283-0332.
185. АКТЕР, Т., ЯХАН, М. Toxicity Effect of commonly used indigenous plant extracts in controlling rice moth, *Sitotroga cerealella* Oliv in stored rice grain. In: *International Journal of Sustainable Agriculture*. 2013, vol. 5, nr. 1, pp. 10-15. ISSN 2079-2107.
186. FEKADU, GEMECHU et al. Efficacy of botanical powders and cooking oils against Angoumois grain moth, *Sitotroga cerealella* O. (*Lepidoptera: Gelechiidae*) in stored maize. In: *African Journal of Biotechnology*. 2013, vol. 12, nr. 16, pp. 1978-1986. ISSN 1684-5315.
187. СОРОМОТИНА, Т.В., Практикум по овощеводству; федеральное гос. бюджетное образов. учреждение высшего образов. «Пермская гос. с.-х. акад. им. акад. Д.Н. Прянишникова». Пермь: ИПЦ «Прокрость», 2016, 305 с. ISBN 978-5-94279-308-1.
188. НУРГАЛИЕВА Г.К., МУСИНА М.К. Методическое пособие по практическим занятиям по дисциплине «Овощеводство» для студентов. Уральск 2015, 123 с.
189. BADONI, A., BISHT, C., CHAUHAN, J. Seed age effect on germinability in seeds of *Rheum emodi* Wall. ex Meissn. An Endangered Medicinal Plant of Garhwali Himalaya. In: *New York Science Journal*. 2009, vol. 2, nr. 4, pp. 81-84. ISSN 2375-723X.
190. ЩЕРБАКОВА, Т., Биотехнология производства и применения биопрепарата на основе гриба для защиты сои от корневых гнилей. Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Кишинев, 2013, 160 с.
191. БАВТУТО, Б.А. Практикум по анатомии и морфологии растений. Учебное пособие. Минск: Новое знание, 2002, 464с. ISBN 985-6516-56-0.
192. ЧЕРНЯКОВСКАЯ, Е.Ф. Ботаника с основами фитоценологии. Часть 1, Морфология и анатомия растений. Ярославль: Изд-во ЯГПУ, 2009, 53 с.
193. ЛАРЬКИНА, Т.П. Ботанический практикум. Пермь: Изд-во ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА, 2012, 162 с. ISBN 978-5-94279-150-6.
194. САУТКИНА, Т.А., Поликсенова В.Д. Морфология растений. Методические указания. Минск: БГУ, 2011, с. 27-28. ISBN 978-985-518-702-9.

195. ЯМСКИХ, И.Е. Ботаника. Лабораторный практикум, ч. 1, Анатомия и морфология растений. Красноярск: ИПК СФУ, 2009, 98 с. ISBN 978-5-7638-1768-3.
196. ГАММЕРМАН, А.Ф. Лекарственные растения. Справочное пособие. Москва: Высшая школа, 1990, 544 с. ISBN 5-06-000468-6.
197. КОНИЧЕВ, А.С., БАУРИН, П.В. Традиционные и современные методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья: перспективы, достоинства, недостатки. В: *Вестник МГОУ, серия естественные науки*, 2011, №3, с. 49-54. ISSN 2310-712X.
198. БУКЕЕВА, А.Б., КУДАЙБЕРГЕНОВА, С.Ж. Обзор современных методов выделения биоактивных веществ из растений. В: *Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева*. 2012, №2, с. 192-196. ISSN 2616-7034.
199. ИБРАНИМ, Е.А., ДОНА, Н.А., BAKER, F.K. Anti-Inflammatory and antioxidant activities of rhubarb roots extract. In: *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2016, vol. 39, nr. 2, pp. 93-99. ISSN 0976-044X.
200. СМЫСЛОВА, О.А. Хроматографическое исследование фенольных соединений многокомпонентного растительного сбора для лечения и профилактики мочекаменной болезни. Вопросы обеспечения качества лекарственных средств. Москва, 2015, №1, вып.6, с. 14-19. (просмотрено 12.08. 2018). Режим доступа: <https://sibac.info/conf/med/xli/41244>
201. SAENKOD, C. et al. Antioxidative biochemical properties of extracts from some Chinese and Thai rice varieties. In: *African Journal of Food Science*. 2013, vol. 7, nr. 9, pp. 300-305. ISSN 1996-0794.
202. MATTLA, P., ASTOLA, J., KUMPULAINEN, J. Determination of flavonoids in plant material by HPLC with diode-array and electro-array detections. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000, vol. 48, pp. 5834-5841. ISSN 1520-5118.
203. TAMBE, V., BHAMBAR, S. Estimation of total phenol, tannin, alkaloid and flavonoid in *Hibiscus tiliaceus* Linn. wood extracts. Research and Reviews. In: *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2014, vol. 2, nr. 4, pp. 41-47. ISSN 2141-2502.
204. КОВАЛЕВ, В.Н. и другие. Практикум по фармакогнозии: Учебное пособие для студентов вузов. Харьков: Изд-во НФаУ, Золотые страницы, 2003, с. 9-10. ISBN 966-8032-77-2.
205. СОКОЛОВ, Ю. В. Разработка и усовершенствование методики селекции арбуза и дыни на устойчивость к мучнистой росе: автореферат. Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, Астрахань, 2007, с. 14-15.

206. Ландшафтный дизайн и природное земледелие Мульчирование почвы — что это такое? (просмотрено 21.08.2017). Режим доступа: <http://landbuilding.ru/mulchirovanie-pochvy-chto-eto-takoe/>
207. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. Особенности выращивания *Rheum rhaponticum* в условиях Молдовы. В: *Stiinta agricola*. 2017, nr.1, p. 49 – 54. (катег. В), ISSN 1857-0003.
208. ТИХОНОВ, В.Н. и другие. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты. Часть II: учебное пособие. Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 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
209. КАРПУК, В.В., Фармакогнозия: учебное пособие. Минск: БГУ, 2011, с. 249-250. ISBN 978-985-518-430-1.
210. 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, edicia a VI-a*. Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2.
211. ШАМАНСКАЯ, Л.Д. Способ защиты растений от вредителей., Патент RU2531340C1. (RU), ГНУ НИИ садоводства Сибири, дата публикации 20.10.2014. (просмотрено 05.08.2017)
212. BILALA, S. et al. Rhubarb: The wondrous drug (A review), In: *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 2013, v. 3, is.3, pp. 228-233.
213. 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: 1224-919X eI ISSN: 2457-5178.
214. ГЛАДКАЯ, А.А., НАСТАС, Т.Н. Возможности использования экстракта из корня *Rheum* в защите от фитопатогенов семян сои и кукурузы. In: *Materialele Conferintei stiintifice internationale, edicia a VI-a, Genetica, Fiziologia si Ameliorarea plantelor*. Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2
215. SCHMITT, A. Induced resistance with extracts of *Reynoutria sachalinensis*: crucial steps behind the scene IOBC/wprs Bull. 2006, 29(8), pp. 85-90. ISBN: 92-9067-191-0
216. ГЛАДКАЯ, А. и другие. Фунгицидные и стимулирующие свойства экстрактов из корней и листьев ревеня в контроле фитопатогенов рода *Fusarium* семян сои и

- кукурузы.** В: *Simpozionul Științific Internațional, Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică.* Chișinău, 2018, pp. 88-91. ISBN 978-9975-108-52-2.
217. NASH, R. Phytotoxic interaction studies - techniques for evaluation and presentation of results. In: *Weed Science Society of America.* 1981, 29, p. 147–155. ISSN 1550-2759
218. DE WAARD, M. “Synergism and antagonism in fungicide mixtures containing sterol demethylation inhibitors.” In: *Phytopathology.* 1996, 86, p. 1280-1283. ISSN 0031-949X
219. GANDHI et al. Antimycotic rhamnolipid compositions and related methods of use, 2007, Patent US 20070191292A1 (12), Publication number: 0191292 A1, Renhart Boernervan Deuren S.C., 23 p. (просмотрено 18.12.2018). Available online: <https://patentimages.storage.googleapis.com/35/b8/bf/242df5d7aeab1f/US20070191292A1.pdf>
220. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т. **Влияние на всхожесть предпосевной обработки семян растений рода *Rheum* экологическими препаратами.** В: *Международный научно-исследовательский журнал Успехи современной науки.* Москва, Том 1, №9, 2017, с. 181-186. (катег. В) ISSN 2412-6608.
221. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. **Особенности выращивания *Rheum rharonticum* в условиях Молдовы.** В: *Stiinta agricola.* nr.1, Кишинэу, 2017, pp. 49 – 54. (катег. В), ISSN 1857-0003.
222. ГЛАДКАЯ, А., ЩЕРБАКОВА, Т., ЛЕМАНОВА, Н. **Влияние предпосевной обработки семян ревеня микробиологическими суспензиями на всхожесть.** В: *Региональное плодоводство и овощеводство: состояние, проблемы, перспективы, международная научно-практическая конференция.* ФГБОУ ВПО, Омск, 2014, с. 94-97. ISBN 978-5-600-00137-4.
223. 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.* ФГБНУ ВИЛАР, Москва, 2016, с. 203-206. ISBN 978-5-9243-0281-2.
224. 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, IV Международная научно-практическая конференция.* Тирасполь, 2012, с. 77-78. ISBN 978-9975-4062-8-4.

225. 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.
226. GLADCAIA, A., VOLOSCIUC, L. **The biological substantiation of application of antimicrobial properties of *Rheum rhaponticum* in plant protection.** In: *Revue Scientific Study & Research, Biology*. Romania, Bacău, 2016, vol. 25, nr. 1, pp. 7-11, (катег. B), ISSN: 1224-919X eI ISSN: 2457-5178.
227. GLADCAIA, A. et al. **Advantages of economic cultivation of the genus *Rheum* plants in the republic of Moldova.** In: *Journal of Botany*. Chisinau, 2017, vol. 9, nr. 1, issue14, pp. 82-86. (катег. B), ISSN 1857-09X.
228. ГЛАДКАЯ, А.А., НАСТАС, Т.Н. **Возможности использования экстракта из корня *Rheum* в защите от фитопатогенов семян сои и кукурузы.** In: *Materialele Conferintei stiintifice internationale (edicia a VI-a). Genetica, Fiziologia si Ameliorarea plantelor*. Chisinau, 2017, pp. 276-279. ISBN 978-9975-56-463-2.
229. ГЛАДКАЯ, А.А., ВОЛОЩУК, Л.Ф., ТОДИРАШ, В.А. **Оценка фунгицидной активности экстракта из корня ревеня (*Rheum*) против мучнистой росы.** В: *Материалы международной научно-практической конференции, Сибирский научно-исследовательский институт земледелия и химизации сельского хозяйства*. Краснообск, 2013, с. 390-392. ISBN 978-5-906143-19-8.
230. ГЛАДКАЯ, А., ВОЛОЩУК, Л., ТОДИРАШ, В. **Исследование биологической эффективности экстракта корня ревеня (*Rheum*) в защите тыквенных культур от мучнистой росы.** В: *Материалы Региональной научно-практической конференции Региональное плодоводство и овощеводство: состояние, проблемы, перспективы*. ФГБОУ ВПО, Омск, 2014, с. 188-191. ISBN 978-5-600-00137-4.
231. ГЛАДКАЯ, А., ТОДИРАШ, В., СТРАТУЛАТ, Т. **Исследование биологической эффективности фенольных соединений экстракта корня *Rheum rhaponticum* L в контроле мучнистой росы.** В: *Сборник материалов IX Международного симпозиума. Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты*. Москва, 2015, с. 247-251. ISBN 978-5-9906617-8-3.
232. ГЛАДКАЯ, А.А. **Биологическая эффективность экстрактов корня и листьев *Rheum rhaponticum* для контроля *Sphaerotheca fuliginea* на рассаде *Cucurbitaceae* в закрытом грунте.** В: *Simpozionul Științific Internațional, Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică*. Chișinău, 2018, pp.17-19. ISBN 978-9975-108-52-2.

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

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Биологическая эффективность экстрактов растения

Rheum rhaponticum L. в контроле тли и отрождении *Sitotroga cerealella* Oliv

Таблица П. 1.1. Определение % смертности тли (*Aphis pomi* Degeer., *Aphis fabae* Scop. и *Schizaphis graminum* Rondani.) и биологической эффективности экстрактов *Rheum rhaponticum* L. после обработки

Вариант	№	Смертность, %			Биоэффективность, %		
		<i>Schizaphis graminum</i>	<i>Aphis pomi</i>	<i>Aphis fabae</i>	<i>Schizaphis graminum</i>	<i>Aphis pomi</i>	<i>Aphis fabae</i>
Контроль	1	25,0	30,3	40,0			
	2	50,0	18,6	44,0			
	3	20,0	27,7	36,0			
	4	14,9	25,6	22,0			
	ср.	25,5	25,5	35,6			
Эталон	1	85,7	59,6	92,0	60,2	34,1	56,4
	2	81,8	78,4	96,0	56,3	52,9	60,4
	3	78,6	80,0	96,0	53,1	54,5	60,4
	4	83,3	71,4	100,0	57,8	45,9	64,4
	ср.	82,4	72,3	96,0	56,9	45,5	60,4
V1 5% R	1	53,3	73,1	90,0	27,8	47,6	54,4
	2	63,7	88,2	92,0	38,2	62,7	56,4
	3	68,0	78,4	80,0	42,5	52,9	44,4
	4	64,7	81,1	70,0	39,2	55,6	34,4
	ср.	62,4	79,9	83	36,9	54,1	47,4
V2 5% L	1	83,3	65,2	94	57,8	39,7	58,4
	2	91,2	86,5	96	65,7	61,0	60,4
	3	93,5	76,7	96	68,0	51,2	60,4
	4	76,4	78,4	94	50,9	52,9	58,4
	ср.	87,0	78,3	95	61,5	52,5	59,4
V3 5% F	1	84,8	91,5	86	59,3	66,0	50,4
	2	79,2	80	76	53,7	54,5	40,4
	3	71,4	88,4	50	45,9	61,9	14,4
	4	92,5	58,1	70	67,0	32,6	34,4
	ср.	82,0	79,7	70,5	56,6	53,9	34,9
HCP _{0,05}		12,3	12,1	13,9	9,8	12,1	10,8

Таблица П. 1.2. Динамика отрождения имаго *Sitotroga cerealella* Oliv

Вариант	8.08.2017	18.08.17	28.08.17	7.09.17
	шт./1зерно	шт./1зерно	шт./1зерно	шт./1зерно
Контроль	0	0,1	0,5	1,0
Эталон	0	0,07	0,1	0,4
V1 – 20 % R	0,06	0,2	0,3	1,0
V2 – 80 % R	0	0,1	0,2	0,6
V3 – 20 % L	0,01	0,2	0,3	0,8
V4 – 20 % L + 20 % R	0,03	0,2	0,3	0,7
HCP _{0,05}				0,1

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Фунгицидная активность экстракта корня ревеня для подавления фитопатогенов рода *Fusarium*

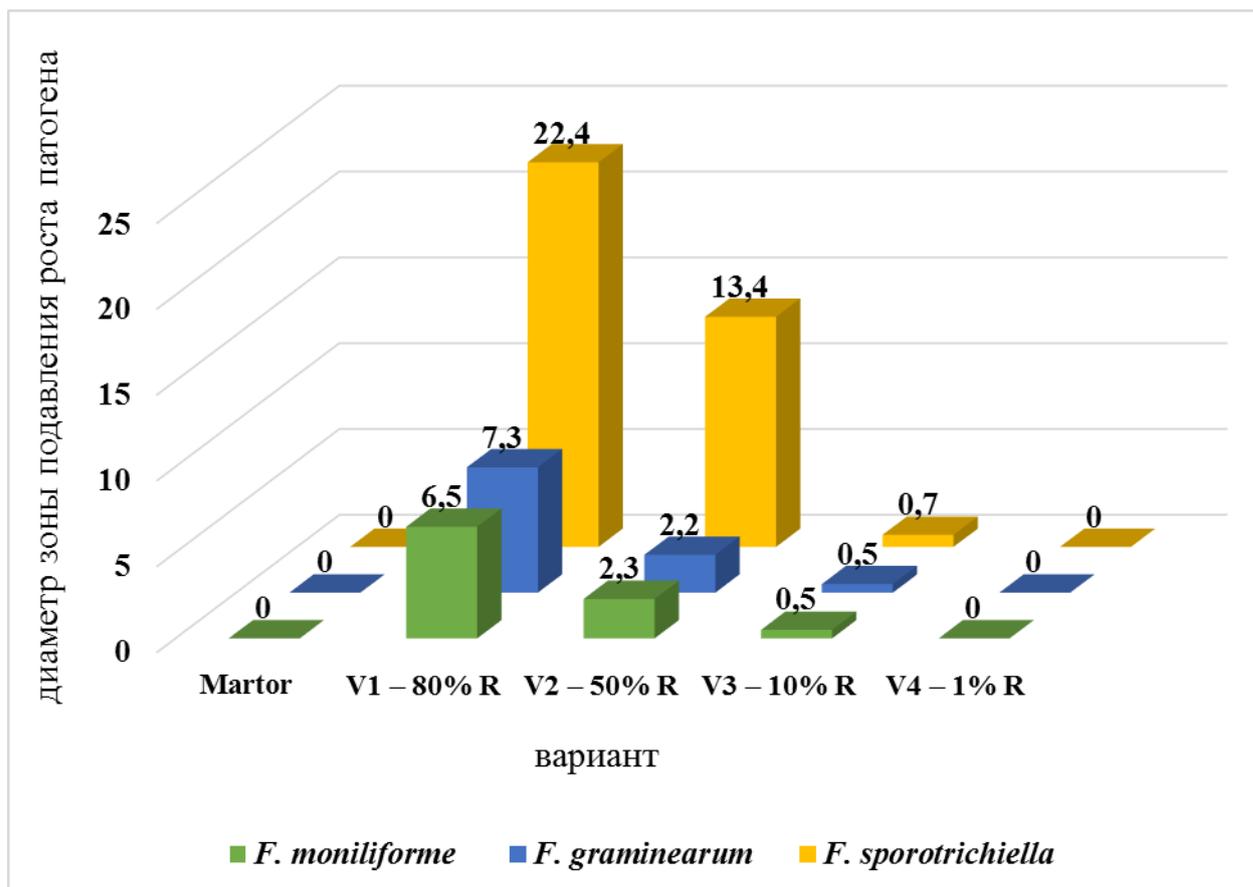


Рис. П. 2.1. Оценка диаметров зон подавления роста патогена *Fusarium* экстрактом из корня ревеня в различных концентрациях

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Влияние экстрактов из корня и листьев *Rheum raphonticum* L. на всхожесть и размеры проростков семян кукурузы сахарной и сои



**Рис. П. 3.1. Определение влияния экстрактов листьев и корня ревеня на всхожесть и размеры проростков семян кукурузы в лабораторных условиях.
а – проростки кукурузы, б – определение размеров корешка и стебелька**



Рис. П. 3.2. Опыт по пределению влияния предпосевной обработки экстрактами ревеня на всхожесть и размеры проростков сои и кукурузы

3 повторность		2 повторность		1 повторность
КУКУРУЗА контроль	40 см	КУКУРУЗА V1	40 см	КУКУРУЗА контроль
СОЯ контроль		СОЯ V1		СОЯ контроль
КУКУРУЗА эталон		КУКУРУЗА V2		КУКУРУЗА эталон
СОЯ эталон		СОЯ V2		СОЯ эталон
КУКУРУЗА V1		КУКУРУЗА V3		КУКУРУЗА V1
СОЯ V1		СОЯ V3		СОЯ V1
КУКУРУЗА V2		КУКУРУЗА эталон		КУКУРУЗА V2
СОЯ V2		КУКУРУЗА эталон		СОЯ V2
КУКУРУЗА V3		КУКУРУЗА контроль		КУКУРУЗА V3
СОЯ V3		СОЯ контроль		СОЯ V3

Рис. П. 3.3. Схема опытного участка по определению влияния предпосевной обработки экстрактами листьев и корня ревеня на всхожесть и размеры проростков кукурузы и сои с естественным фоном заражения



Рис. П. 3.4. Общий вид опытного участка по определению влияния предпосевной обработки экстрактами листьев и корня ревеня на всхожесть и размеры проростков кукурузы и сои с естественным фоном заражения

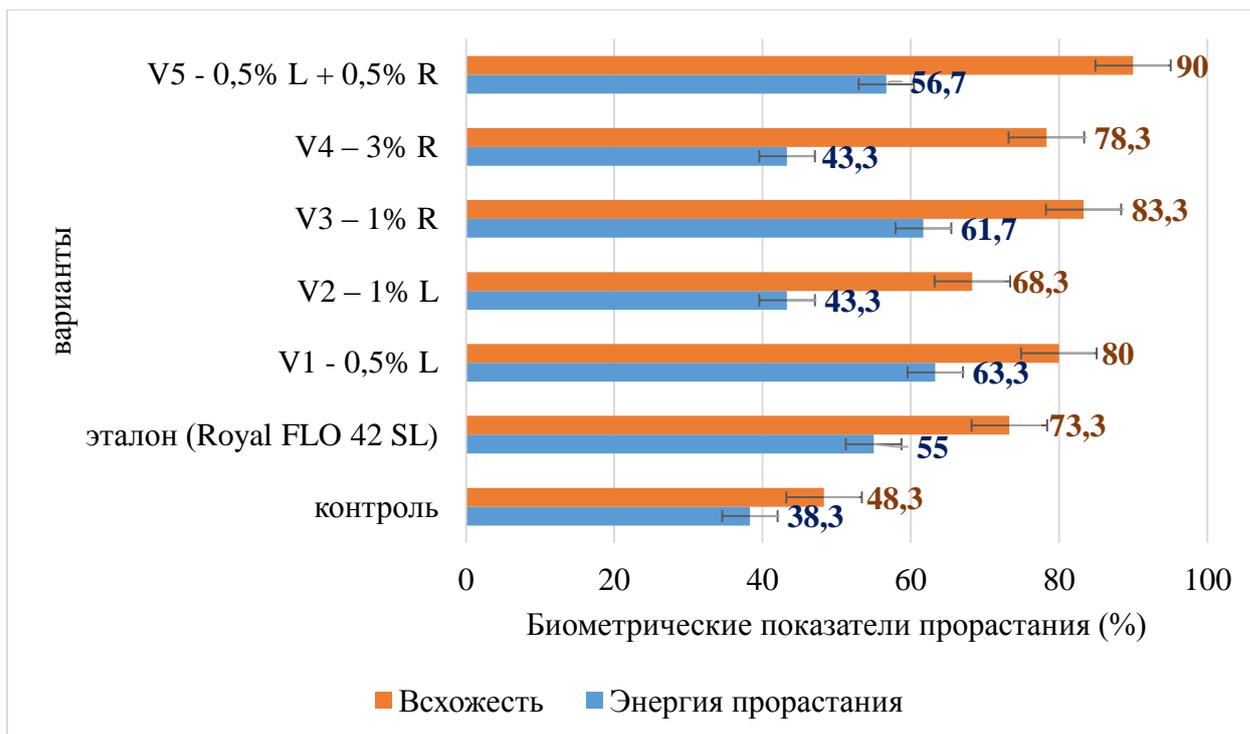


Рис. П.3.5. Влияние экстрактов корня и листьев ревеня на всхожесть семян сои сорт “Надежда” (НСР_{0,05} – 13,6) и энергию прорастания (НСР_{0,05} – 12,4)

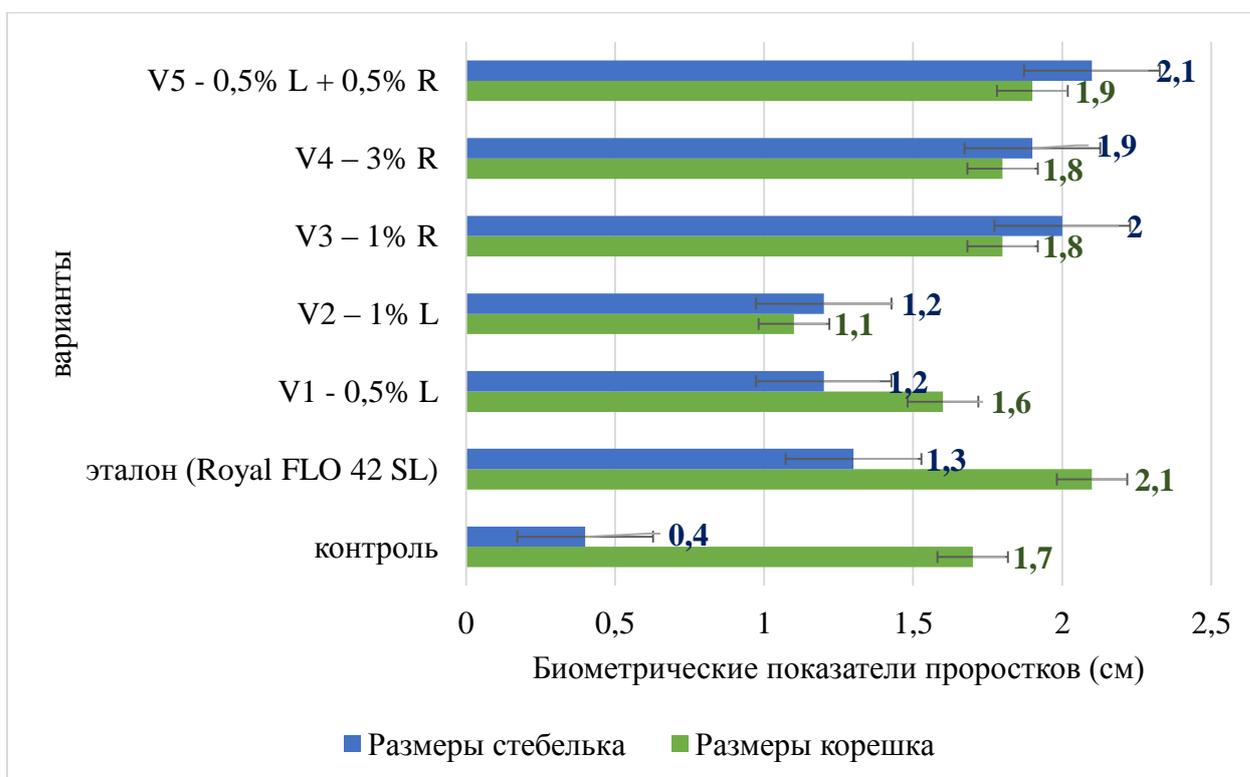


Рис. П.3.6. Влияние экстракта корня и листьев ревеня на размер стебелька сои сорт “Надежда” (НСР_{0,05} – 0,3) и корешка (НСР_{0,05} – 0,6)

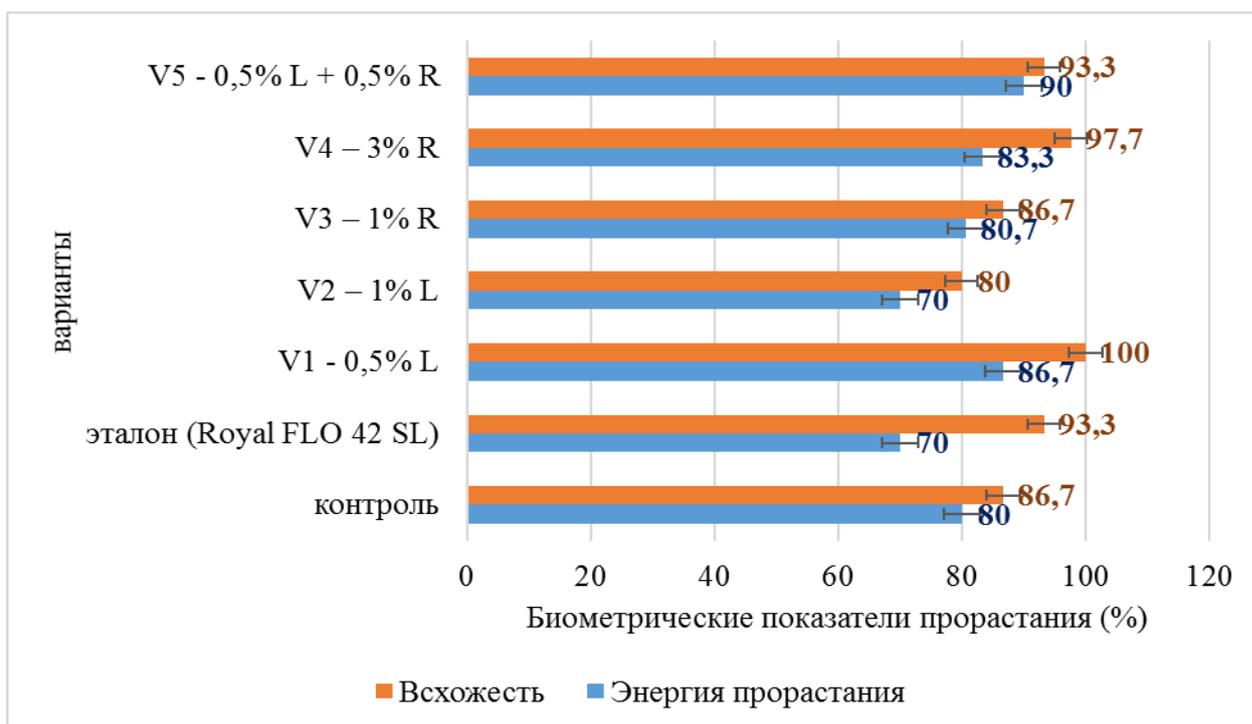


Рис. П.3.7. Влияние экстрактов корня и листьев ревеня на всхожесть семян кукурузы (гибрид «Pogumbeni 280»), (НСР_{0,05} – 12,3) и энергию прорастания (НСР_{0,05} – 11,4)

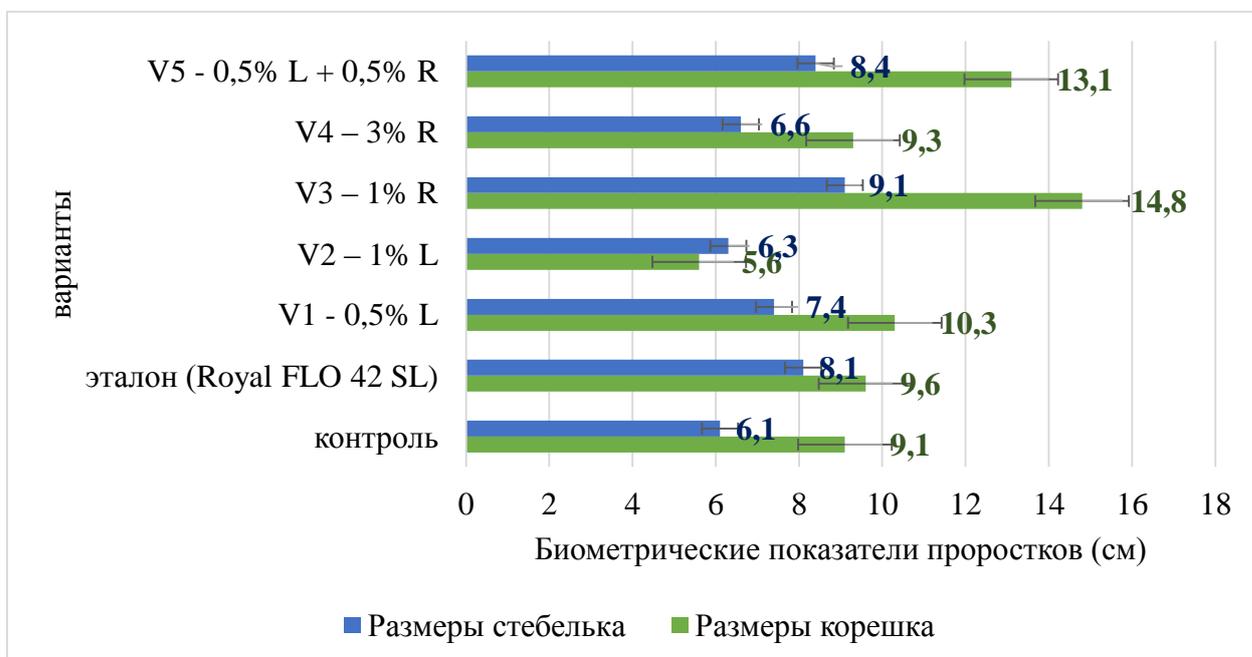


Рис. П.3.8. Влияние экстрактов корня и листьев ревеня на размеры корешка кукурузы (гибрид «Pogumbeni 280»), (НСР_{0,05} – 1,1) и стебелька (НСР_{0,05} – 0,7)

ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Симптомы заболевания тыквенных культур мучнистой росой и передозировки экстракта корня *Rheum rhabarbaricum* L. при обработке листьев



а)



б)

Рис. П 4.1. Характерные проявления колоний мучнистой росы на листьях тыквы (а); желтая каемка на листе рассады тыквенных культур (б).

ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Акты внедрения результатов работы

Акт внедрения научно-исследовательских работ

03.10.2016

Направление и объект исследований. Защита плантации огурца от мучнистой росы в теплице. Мы, нижеподписавшийся разработчик, Гладкая Алла – научный сотрудник АНМ, с одной стороны и руководитель крестьянского хозяйства ГТ "Vartic Rodica Mihail", Хынчешский район, село Божиены, Вартик Родика, с другой стороны, составили настоящий акт о том, что в течение 2016 года в теплице площадью 20 (двадцать) соток названного хозяйства, была испытана защита на плантации огурцов от мучнистой росы с использованием препаративных форм на основе экстрактов ревеня с микроэлементами.

Краткое описание научно-технической продукции. Площадь тепличной плантации огурцов 2000 м², в том числе контрольные и эталонные участки. Гибрид огурца «Артист F1». Исходная зараженность: несколько одиночных растений, пораженных мучнистой росой. Обработки проводились профилактически, еженедельно, после появления первых признаков мучнистой росы на растениях в теплице. Учет интенсивности и развития болезни проводился после первых трех обработок.

Эффективность научно-технической продукции.

Использованные, высокоэффективный эталонный препарат (RECOL) и, предложенные разработчиком, препаративные формы на основе экстрактов ревеня с микроэлементами и схема их применения обеспечили надежную защиту плантации огурца от мучнистой росы. Наивысшая эффективность (86,8%) была получена при обработке составами 1% (Cu²⁺ + экстракт корня *Rheum*) и 0,5% (Cu²⁺ + экстракт корня *Rheum*). Профилактический эффект экстракта корня *Rheum* усилен лечебным действием микродоз (0,3 мг Cu²⁺ на 1 литр рабочего раствора) меди. Самая низкая эффективность (59,1%) в варианте 0,5% (Zn²⁺, Fe²⁺, Mg²⁺, B³⁺ + экстракт корня *Rheum*) объясняется тем, что питательные микроэлементы стимулировали не только листья растений, но и гифы прорастающего гриба и поддерживали заражение на растении при недостаточной концентрации экстракта корня *Rheum*. Самым активным профилактическим и лечебным элементом препаративных форм является экстракт корня *Rheum*.

Разработчик

Гладкая А.



Руководитель ГТ "Vartic Rodica
Mihail"

Рис. 5.1. Акт внедрения научно-технических работ в хозяйстве «Vartic»

UNIVERSITATEA DE STAT
DIN MOLDOVA

Facultatea
de Biologie și Pedologie

MD-2009, Chișinău
Str. M. Kogălniceanu, 65A
tel 022-24-43-24, fax (373-2) 24-06-55



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ МОЛДОВЫ

Факультет
Биологии и Почвоведения

MD-2009, Кишинэу
ул. М. Когăльничану, 65А
тел. 022-24-43-24, факс (373-2) 24-06-55

CERTIFICAT

Prin prezentul, se confirmă, că rezultatele științifice ale D-nei GLADCAIA Alla, cercetător științific al Institutului de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor publicate în revistele «Revue scientifique Study & Research – Biology» (Bacău), «Успехи современной науки» (Москва), «Știința agricolă», «Journal of Botany», «Studia Universitatis Moldaviae» și expuse în teza de doctor în științe biologice intitulată „ARGUMENTAREA BIOLOGICĂ A APLICĂRII EXTRACTELOR DIN PLANTELE DIN GENUL RHEUM CA MIJLOC DE PROTECȚIE A PLANTELOR”, cât și din alte lucrări, sunt folosite în procesul didactic la cursul normativ “BOTANICA” pentru studenții anului II și III, ciclul I Licență al Facultății de Biologie și Pedologie a Universității de Stat din Republica Moldova.

Decanul Facultății de Biologie și Pedologie,
doctor în științe biologice,
conferențiar universitar



LEȘANU Mihail

Рис. 5.3. Акт внедрения полученных результатов в основу курса биотехнологии в Молдавском Государственном Университете

ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ

Нижеподписавшаяся, заявляю под личную ответственность, что материалы, представленные в докторской диссертации, являются результатом личных исследований и разработок. Осознаю, что в противном случае, буду нести ответственность в соответствии с действующим законодательством.

Гладкая Алла

8.10.2018

DATE PERSONALE

Numele: Gladcaia

Prenumele: Alla

Adresa: str. A. Russo, Chişinău, Republica Moldova

Telefon: +373 79212953

E-mail: allagladcaia@mail.ru

Data naşterii: 01.03.1960

Cetăţenia: Republica Moldova

Cunoaşterea limbilor: Rusă - maternă; Engleză - bine; Română - la nivel de conversaţie



STUDII:

2011- 2015 – doctorat. Universitatea Academiei de Ştiinţe a Moldovei; IGFPP, specialitatea – 411.09 Protecţia Plantelor

1977 – 1982 - Universitatea de Stat din Chişinău, facultatea biologică, specialitatea - biologie, diploma №872352

ACTIVITATEA PROFESIONALĂ:

2005 – Prezent Institutul de Genetică, Fiziologie şi Protecţie a Plantelor al AŞM,
Laboratorul de Fitofarmacie şi Ecotoxicologie, Cercetător Ştiinţific

Experienţa profesională:

- Cunosc metode principale de creare şi testare a extractelor de plante cu proprietăţi erbicide, fungicide şi insecticide.
- Cunosc metode principale şi tehnici de executare a experienţelor de laborator şi în câmp.
- Aplicarea sistemelor şi programelor noi de analiză şi prognozare a stării agroecosistemelor

2001-2005 SRL “OLMOSDON”, secretar-funcţionar;

2000-2001 SRL “ALES-ERIC”, şcoală “EVRICA”, profesor de biologie şi chimie;

1993 -2000 SRL “STELUŢA” director executiv;

1991- 1993 Centrul de Cercetare "Moldbioteh", referentă;

1986-1991 Colegiul Pedagogic, Chişinău, profesor de biologie;

1982-1986 Colegiu №56, Chisinau, profesor de biologie şi chimie.

PARTICIPĂRI LA FORURI ŞTIINŢIFICE:

- международная научная конференция «Значение научного наследия академика ВАСХНИЛ и Россельхозакадемии М.С. Дунина в современных работах ученых России», РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, 2011;
- международная научная конференция „Геоэкологические и биоэкологические проблемы северного причерноморья, IV Международная научно-практическая конференция», Тирасполь, 2012;
- Международная научно-практическая конференция «Защита растений в современных технологиях возделывания сельскохозяйственных культур», пос. Краснообск, 2013;
- Научно-практическая конференция «Региональное плодоводство и овощеводство: состояние, проблемы, перспективы», ФГБОУ ВПО Омск, 2014;
- IX Международный симпозиум «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», Москва, 2015;
- XVIII International Plant Protection Congress, Berlin (Germany), 2015;
- Simpozionul Științific Internațional „Protecția plantelor – realizări și perspective”, Chișinău, 2015;
- Международная научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС», Большие Вяземы, Московской области, 2016;
- Международная научно-практическая конференция «Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине», ФГБНУ ВИЛАР, Москва, 2016;
- Simpozionul Științific Național cu Participare Internațională «Biotehnologii avansate – realizări și perspective» (ediția IV-a), consacrat aniversării a 70 de ani de la crearea primelor instituții de cercetare ale Academiei de Științe a Moldovei și a 55-a de la inaugurarea și fondarea AȘM, Chișinău, 2016;
- International Scientific Symposium “Conservation of plant diversity” (5th edition), 2017;
- Conferința științifică internațională (ediția a VI-a) “Genetica, Fiziologia și Ameliorarea plantelor”, Chișinău, 2017;
- Международная научная конференция «Перспективы Лекарственного Растениеводства», Москва, 2018;
- Simpozionul Științific Internațional, «Protecția Plantelor în Agricultura Convențională și Ecologică», Institutul de Genetică, Fiziologie și Protecție a Plantelor, Octombrie, Chișinău, 2018;
- Международная научно-практическая конференция «Наука, производство, бизнес: современное состояние и пути инновационного развития аграрного сектора на примере

Агрохолдинга «Байсерке-Агро», Алматы, 2019;

- Международная научная конференция «Роль метаболомики в совершенствовании биотехнологических средств производства», ФГБНУ ВИЛАР, 2019;

- Международная научно-практическая конференция «Иммунитет растений к инфекционным заболеваниям», посвященная 100-летию монографии Н.И. Вавилова, 25-28 июня, 2019.

ARTICOLE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE:

Articole în culegeri internaționale – 10;

Articole în culegeri naționale – 10.

CURSURI:

- Absolventă al cursuri de *limba engleza*, Departamentul de Educație publică a orașului Chișinău, adeverință № 2208, 1980-1982.
- Am primit profesii publice suplimentare – *lector*, facultatea de Profesii Sociale a Universitatea de Stat din Chișinău, adeverință №1947, 1981.
- Cursurile de perfecționare la *biologie* cu tematica „Metodologia implementării curriculumului gimnazial”, Ministerul Educației și Științei al Moldova, adeverință № 47, 2000.

STAGIERI ÎN STRĂINĂTATE:

Stagiere în Grădina Botanică, Kiev, 2012, cu scopul perfecționării cunoștințelor în domeniul *allelopatiei* în agroecosisteme.

COMPUTER SKILLS:

Nivelul înalt de utilizare a calculatorului (Windows Applications, MS Office, Internet)