

На правах рукописи

**Максимова
Людмила Геннадьевна**

**Селекция хищного клеща фитосейулюса на
устойчивость к повышенным температурам**

Специальность: 06.01.07 – защита растений

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург
2013

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (ФГБОУ ВПО СПбГАУ)

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Анисимов Анатолий Иванович

Официальные оппоненты:
Гричанов Игорь Яковлевич
доктор биологических наук, ГНУ ВИЗР, заведующий лабораторией
Семенова Алла Георгиевна
кандидат биологических наук, СПбГАУ, доцент

Ведущая организация:
**Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
биологической защиты растений Россельхозакадемии**

Защита состоится 27 июня 2013 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 006. 015.01 на базе Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений по адресу: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д. 3.

Факс: (812) 470-51-10; e-mail: vizrspb@mail333.com,
web-сайт: www.vizrspb.narod.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений

Автореферат разослан 27 мая 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Наседкина Галина Анатольевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Стабильность режимов в теплицах создает благоприятные условия для развития вредных членистоногих и фитопатогенных микроорганизмов. При этом недобор урожая может достигать 25–40% и более. Возделывание некоторых культур, например огурца, в защищённом грунте практически невозможно без постоянной борьбы с паутинным клещом. При этом используют как химические средства защиты растений, так и биологические.

Самый разработанный прием биологической защиты растений от паутинного клеща в теплицах – использование хищного клеща фитосейулюса – *Phytoseiulus persimilis* Ath.-Henr. Однако в условиях повышенных температур фитосейулюс не может достаточно активно размножаться, его эффективность снижается (Петрова, 1972). В то же время условия повышенной температуры благоприятны для развития паутинного клеща (Ильичева, 1973), самки которого концентрируются на верхних молодых листьях растений огурца. Фитосейулюс при таких условиях сосредотачивается на нижних и средних частях вегетирующих растений, что позволяет вредителю беспрепятственно размножаться (Плотников, 1977).

Решить эту проблему можно, используя селекционно-генетический подход. Селекция полезных членистоногих имеет большие перспективы как направление интенсификации биометода путем повышения эффективности энтомофагов и акарифагов за счет улучшения их биологических характеристик (Анисимов, 1986). Это справедливо и в отношении теплоустойчивости фитосейулюса (Ворошилов, 1979; Зверева, 1990).

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы является выведение теплоустойчивых линий хищного клеща фитосейулюса, пригодных для борьбы с паутинным клещом в теплицах. Для выполнения поставленной цели решались следующие задачи:

- подбор исходного материала и проведение массовой прерывистой селекции фитосейулюса на устойчивость к повышенным температурам;
- отработка методики индивидуального отбора и инбредного (внутрисемейного) разведения хищного клеща фитосейулюса;
- проведение индивидуальной семейной селекции фитосейулюса по признаку выживаемости при повышенных температурах;
- оценка и анализ влияния отдельных этапов селекции на выживаемость фитосейулюса, его репродуктивный потенциал и изменение признака прожорливости в селектируемых линиях;
- проверка эффективности отселектированных линий хищного клеща в борьбе с паутинным клещом на культуре огурца в условиях защищенного грунта.

Научная новизна. Впервые разработана методика семейного разведения хищного клеща фитосейулюса позволяющая проводить близкородственные скрещивания у этого вида.

Впервые методом индивидуальной селекции при непрерывном отборе выделены 2 высоко инбредные линии (породы) фитосейулюса, устойчивые к

повышенным температурам и способные длительное время сохранять этот признак без поддерживающего отбора.

Практическая значимость. Выведенные теплоустойчивые линии фитосейулюса можно использовать в практике борьбы с паутинным клещом в тепличных хозяйствах даже в условиях повышенных температур.

Апробация работы. Основные результаты исследований были представлены на II Всероссийском съезде по защите растений (Санкт-Петербург, 2005), конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов Санкт-Петербургского государственного аграрного университета (2005-2013), периодическом семинаре по экофизиологии насекомых (2006), совещании по биологической защите растений (Санкт-Петербург, 2007), XIII (2007) и XIV (2012) съездах Российского энтомологического общества, 5-ой международной научной конференции Ирана и России по проблемам развития сельского хозяйства (Санкт-Петербург, 2009).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, из них 3 статьи в рецензируемых журналах.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, 6-ти глав, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы, включающего 198 источников, в том числе 42 на иностранных языках. Работа изложена на 174 страницах, содержит 37 таблиц, 47 рисунков и 1 приложение.

1. Обзор литературы

Описаны морфологические, биологические, экологические особенности хищного клеща фитосейулюса. Большое внимание уделено изложению принципов селекции членистоногих, описана их селекция с помощью массового и индивидуального отбора. Сделано заключение о том, что применение селекционно-генетических приемов может быть перспективным для повышения эффективности хищного клеща фитосейулюса, используемого для биологической борьбы с паутинным клещом в теплицах.

2. Материалы и методы

Работа выполнена в лабораторных условиях на базе кафедры биологической защиты растений СПбГАУ в период с 2004 по 2011 год.

Объект исследований – культура хищного клеща фитосейулюса, заложенная в 2004 году от смешивания двух популяций, взятых из тепличных хозяйств Ленинградской и Саратовской областей. Массовое разведение фитосейулюса проводили по методике, разработанной Н.Ф. Бакасовой (1976).

При индивидуальном посемейном разведении фитосейулюса потомство получали от одной оплодотворенной самки. Клещей содержали в стаканах оригинальной конструкции на отдельных растениях фасоли.

Устойчивость к повышенным температурам ($+39^{\circ}\text{C}$ – $+43^{\circ}\text{C}$) оценивали по выживаемости фитосейулюса после экспозиции в термостате. Основные показатели репродуктивного потенциала и прожорливость хищного клеща оценивали по методике Ю.Ф. Зверевой (1990).

Эффективность фитосейулюса в борьбе с паутинным клещом оценивали на растениях огурца в модельных экспериментах (оранжерея кафедры биоло-

гической защиты растений СПбГАУ) при исходном соотношении хищника и жертвы 1:20, а в производственных опытах (ЗАО «Весна – Тихвин») при нормах выпуска 1:10.

В качестве контроля во всех экспериментах использовался фитосейулюс, полученный из коллекции ВИЗР, который отбору с помощью повышенных температур не подвергался.

Для оценки достоверности различий использовали критерии Стьюдента и хи-квадрат. Использовали также дисперсионный и корреляционный анализы (Урбах, 1964).

3. Массовая селекция фитосейулюса на устойчивость к повышенным температурам

Нами были оценены выборки из двух популяций фитосейулюса (табл. 1), которые не показали достоверных различий по устойчивости.

Таблица 1. Выживаемость имаго фитосейулюса из двух популяций при повышенных температурах (экспозиция 5 часов)

Популяция	Выжило хищных клещей* при температуре:					
	+36 ⁰ С		+38 ⁰ С		+41 ⁰ С	
	особей	% ± SE	особей	% ± SE	особей	% ± SE
Ленинградская	95	90,5 ± 2,86 a	8	7,6 ± 2,59 bc	2	1,9 ± 1,33 c
Саратовская	96	91,4 ± 2,73 a	9	8,6 ± 2,73 b	4	3,8 ± 1,87 bc

Примечание: здесь и далее одинаковыми буквами обозначены достоверно не различающиеся ($p > 0,05$, критерий Стьюдента) значения; SE (standard error) – стандартная ошибка процента; * – из 105-ти подвергнутых действию температуры особей.

Для увеличения генетической гетерогенности исходного материала была создана гибридная популяция. Хищных клещей из двух популяций смешали примерно в равных количествах и разводили совместно в течение времени, достаточном для прохождения 3–4-х генераций.

Следуя методике Н.В. Ворошилова (1979), который рекомендует вести отбор при 30–70% уровне выживаемости подвергнутых действию повышенной температуры хищных клещей, массовую прерывистую селекцию мы проводили, ориентируясь на 50%-ный уровень выживаемости. Начали отбор при температуре +39⁰С и экспозиции 6 часов. В 11-м поколении мы впервые получили доказательства успешного хода селекции на устойчивость фитосейулюса к повышенной температуре (табл. 2). В селектируемой линии выжило около 45% хищных клещей, и мы ужесточили температурные условия.

В дальнейшем селекцию проводили при температурах от +40⁰С до +43⁰С и экспозициях от 4-х до 7-ми часов (табл. 2). Так, с 12-го по 21-е поколение отбор проводили при температуре +40⁰С. В 18-ом поколении отличия в уровне выживаемости селектируемых клещей и контрольных при температуре +40⁰С оказались статистически достоверными ($p < 0,001$), а сама выживаемость высокой. Проведенное в 21-м поколении сравнение с контролем подтвердило преимущество селектируемой линии уже при 6-ти часовой экспозиции. Поэтому мы назвали популяцию линией ТМ (теплоустойчивая, массовой селекции).

Таблица 2. Выживаемость фитосейулюса в разных поколениях массовой прерывистой селекции

Даты	Поколение отбора	°C	Экспозиция, час	Фитосейулюса		
				обработано особей	выжило	
					особей	% ± SE
06.06.05.	11	+39	6	140	63	45,0 ± 4,21 jkm
	контроль			105	20	19,1 ± 3,83 defg
11.06.05.	12	+40	4	63	20	31,7 ± 5,86 ghij
13.06.05.			6	63	6	9,5 ± 3,70 bcd
13.09.05.	18	+40	4	77	48	62,3 ± 5,52 opr
	контроль			98	29	29,6 ± 4,61 ghi
11.10.05.	21	+40	6	140	74	52,9 ± 4,22 mnop
	контроль			77	21	27,3 ± 5,08 ghi
10.12.05.	23	+41	4	259	123	47,5 ± 3,10 m
	контроль			63	13	20,6 ± 5,10 defgh
28.01.06.	27	+42	5	140	20	14,3 ± 2,96 cdef
16.04.06.	28	+42	5	140	11	7,9 ± 2,27 bc
01.05.06.		+39		140	66	47,1 ± 4,22 kmn
02.06.06.	31	+41		140	50	35,7 ± 4,05 ijk
13.06.06.	32	+42	5	140	4	2,9 ± 1,41 ab
	контроль			140	2	1,4 ± 1,00 a
08. 08.06.	34	+42	5	140	36	25,7 ± 3,69 ghi
	контроль			140	12	8,6 ± 2,37 c
24.04.07.	44	+42	3	77	54	70,1 ± 5,60 r
16.07.07.	49	+41	7	140	75	53,5 ± 4,21 mop
	контроль			140	30	21,4 ± 3,46 efgh
04.06.08.	60	+41	6	140	81	57,8 ± 4,17 nopr
	контроль			140	20	14,3 ± 2,96 cdef
10.05.09.	71	+42	4	98	49	50,0 ± 5,05 mno
	контроль			98	23	23,5 ± 4,28 fgh
26.08.09.	75	+42	4	112	72	64,3 ± 4,53 pr
	контроль			84	19	22,6 ± 4,56 efgh
07.12.09.	79	+43	3	91	24	26,3 ± 5,07 ghi
	контроль			91	11	12,1 ± 3,42 cde
16.07.10.	89	+43	3	77	26	33,8 ± 5,39 hijk
	контроль			77	6	7,8 ± 3,05 bc
30.01.11.	96	+42	5	77	39	50,6 ± 5,70 mnop
	контроль			84	12	14,3 ± 3,82 cdef

Начиная с 23-го поколения условия отбора старались последовательно ужесточить высокими температурами (+41°C и +42°C) и экспозициями. Когда выживаемость в селектируемой линии была невысокой, мы снижали температуру или экспозицию (табл. 2). Уровень теплоустойчивости селектируемых клещей со временем повысился. Высокая выживаемость стала проявляться при

температуре +42°C и экспозиции 4 часа (табл. 2, поколения 71 и 75).

Свойство теплоустойчивости в линии ТМ проявилось при температуре +43° С при экспозиции 3 часа (табл. 2, поколения 79 и 89), но выживаемость хищных клещей не превысила 40%. Возврат к отбору фитосейулюса при температуре +42°C и экспозиции 5 часов подтвердил генетическую природу обусловленности признака теплоустойчивости в линии ТМ. Выживаемость хищных клещей из этой линии на протяжении 6-ти поколений (с 92-го по 96-ое) была не ниже 50% и высоко достоверно ($p < 0,001$) отличалась от контроля (рис. 1).

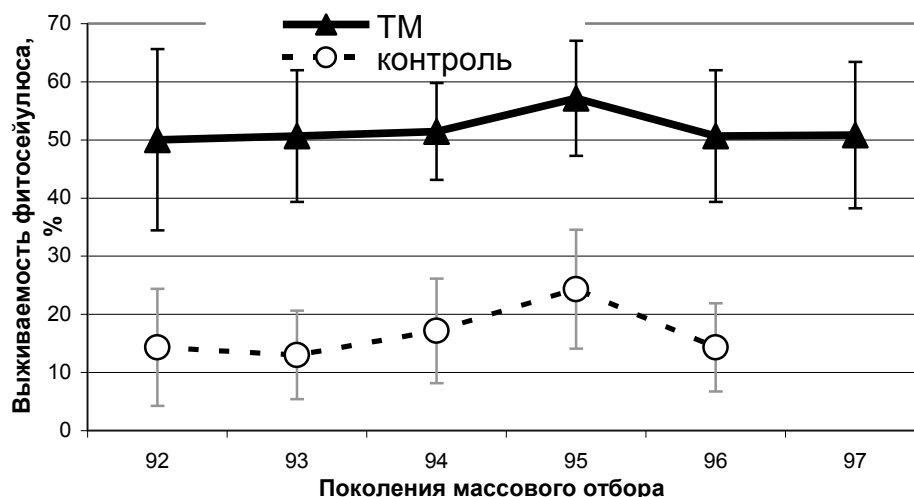


Рис. 1. Динамика выживаемости имаго фитосейулюса в поколениях поддерживающего отбора при температуре + 42°C и экспозиции 5 часов (маркерами показана доверительные интервалы для вероятности 0,95)

4. Селекция фитосейулюса на устойчивость к повышенным температурам при инбредном разведении

По мнению В.А. Струнникова (1960) методы массовой селекции позволяют отбирать линии полезных организмов с интересующими человека признаками без инбредного разведения, вызывающего негативные последствия в отношении жизнеспособности и продуктивности селективируемых популяций. Однако при массовом отборе генетического закрепления селективируемых признаков добиться трудно, и линии приходится вести при постоянном поддерживающем отборе. Поэтому при создании пород животных, например в шелководстве и пчеловодстве, массовая селекция считается малоэффективной. Для генетического закрепления полезных качеств применяют индивидуальный отбор, который у двуполых животных, в частности у фитосейулюса, предполагает переход к тесным близкородственным скрещиваниям. Такая система при строгом посемейном выкармливании хищных клещей была разработана нами (Анисимов, Максимова, 2008) и стала применяться в отношении нескольких отводок от линии ТМ, прошедшей к тому моменту 53 поколения массовой прерывистой селекции на устойчивость к повышенным температурам.

На начальном этапе из 50-ти заложенных от линии ТМ сублиний индивидуальной селекции удалось сохранить только две. Их обозначили как ТИ1 (теплоустойчивая линия 1) и ТИ2 (теплоустойчивая линия 2) и провели более 100 поколений отбора на устойчивость к повышенной температуре (табл. 3). В линии ТИ1 при температуре +41°C и экспозиции 5 часов отбор проводили в

течение 43 поколений, в линии ТИ2 – 40 поколений. К этому времени была достигнута выживаемость клещей на уровне 76–78%. Отбор при температуре +41°C и экспозиции 6 часов проводили в течение 13-ти поколений. При этих условиях наблюдался стабильно высокий уровень выживаемости хищных клещей. Максимальное количество выживших особей наблюдали в 46-ом поколении – 82,1 %.

Таблица 3. Выживаемость фитосейулюса в поколениях индивидуального отбора при инбредном разведении

Даты	°C	Экспозиция, час	Поколения отбора		Фитосейулюса			
					обработано		выжило, % ± SE	
			ТИ1	ТИ2	ТИ1	ТИ2	ТИ1	ТИ2
04.08.08	41	5	31	28	91	112	79,1 ± 4,26 p	78,6 ± 3,88 p
			контроль		140		28,6 ± 3,82 bcdef	
22.12.08			43	40	21	28	76,2 ± 9,29 mnop	78,6 ± 7,75 op
			контроль		70		30,0 ± 5,48 defg	
09.01.09		6	44	41	21	21	76,2 ± 9,29 mnop	71,4 ± 9,86
			контроль		63		31,7 ± 5,86 defgh	
21.03.09			51	48	70	357	80,0 ± 4,78 p	80,0 ± 6,76 p
			контроль		56		28,6 ± 6,04 bcdefg	
08.05.09			55	52	35	28	71,4 ± 7,64 mnop	75,0 ± 8,18 nop
			контроль		98		23,5 ± 4,28 abcdef	
29.05.09		4	57	54	28	28	39,3 ± 9,23 efghij	42,9 ± 9,35 fghij
			контроль		77		19,5 ± 4,51 abcde	
21.08.09			67	64	49	49	75,5 ± 6,14 op	77,6 ± 5,97 p
			контроль		84		20,2 ± 4,38 abcde	
02.09.09	43	3	68	65	28	42	32,1 ± 8,83 a - j	35,7 ± 7,39 efghij
			контроль		70		14,3 ± 4,18 ab	
25.09.10			93	90	42	42	31,0 ± 7,13 cdefghi	26,2 ± 6,78 abcdef
			контроль		42		14,3 ± 5,40 abc	
25.11.10	42	4	97	94	28	105	51,0 ± 5,05 jk	50,5 ± 4,88 jk
			контроль		70		17,1 ± 4,50 ab	
30.12.10		5	99	96	21	35	52,4 ± 10,9 g - o	54,3 ± 8,42 jkmn
			контроль		70		24,3 ± 5,13 abcdef	
30.01.11			101	98	35	49	51,4 ± 8,45 hijkm	49,0 ± 7,14 ijk
			контроль		84		14,3 ± 3,82 a	

При температуре +42°C и экспозиции 4 часа отбор проводили в течение 11-ти поколений. При этом мы констатировали стабильно высокий уровень выживаемости хищных клещей. Максимальный процент выживших особей наблюдали в 67-ом поколении – 75,5% (табл. 3). С 67 по 92 поколение проводили отбор имаго фитосейулюса к повышенной температуре +43°C при экспозиции 3 часа. Выживаемость клещей была существенно ниже чем при +42°C, но достоверно выше, чем в контроле. При возврате к отбору при +42°C (экспозиция 5 часов) обе линии (ТИ1 и ТИ2) проявили высокую выживаемость – 50–60% (рис 2). Это по нашим представлениям обусловлено сохранением наследственных факторов, определяющих устойчивость хищных клещей к высоким температурам.

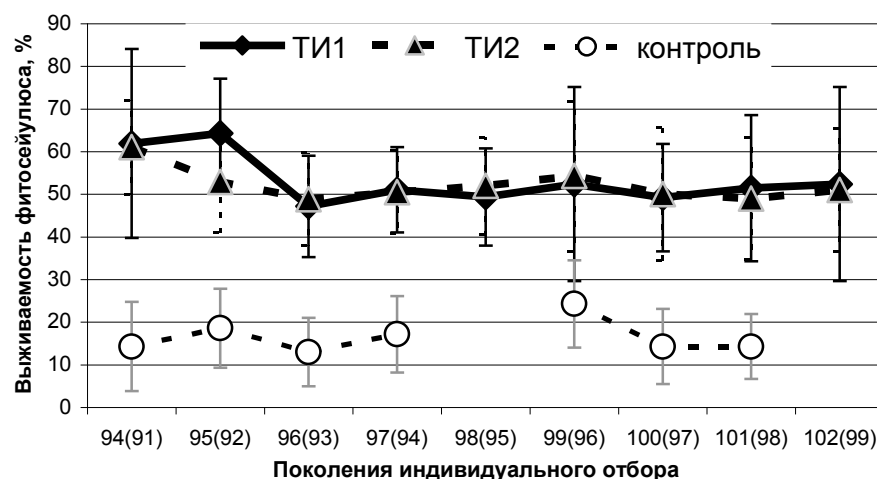


Рис. 2. Динамика выживаемости фитосейулюса по поколениям отбора в линиях ТИ1 и ТИ2 (в скобках) при температуре +42°C и экспозиции 5 часов (обозначения как на рисунке 1)

5. Биологические характеристики селектированных линий фитосейулюса на разных этапах отбора

При проведении селекции важным является вопрос сохранения основных биологических характеристик селектируемых объектов: плодовитости, продолжительности развития и выживаемости. Эти показатели мы периодически оценивали в формируемых на телоустойчивость линиях. Одновременно оценивали прожорливость, которая для хищного клеща является основным хозяйственно важным признаком.

5.1. Прожорливость

Оценку прожорливости проводили по отношению к фазам личинки и имаго паутинного клеща как при оптимальных для существования данного вида температурных условиях (+24 – 26°C за сутки), так и в условиях повышенной температуры (+41°C экспозиция – 5 или 6 часов).

Прожорливость при массовой селекции в условиях оптимальных температур оценивали 5 раз (рис. 3).

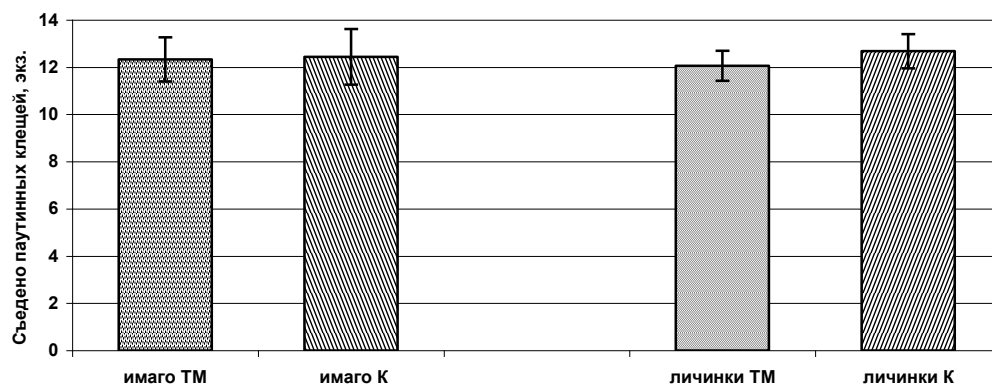


Рис. 3. Среднесуточная прожорливость фитосейулюса, прошедшего массовый отбор на устойчивость к повышенным температурам, по отношению к имаго или личинкам паутинного клеща (обозначения как на рис. 1)

В большинстве проведенных тестов достоверных различий по этому признаку между линией ТМ и контролем в отношении личинок или имаго паутинного клеща не наблюдали (рис. 3). В процессе индивидуальной селекции

прожорливость оценивали 4 раза и также не наблюдали достоверных отличий между хищными клещами из селективируемых линий и контрольных (рис. 4).

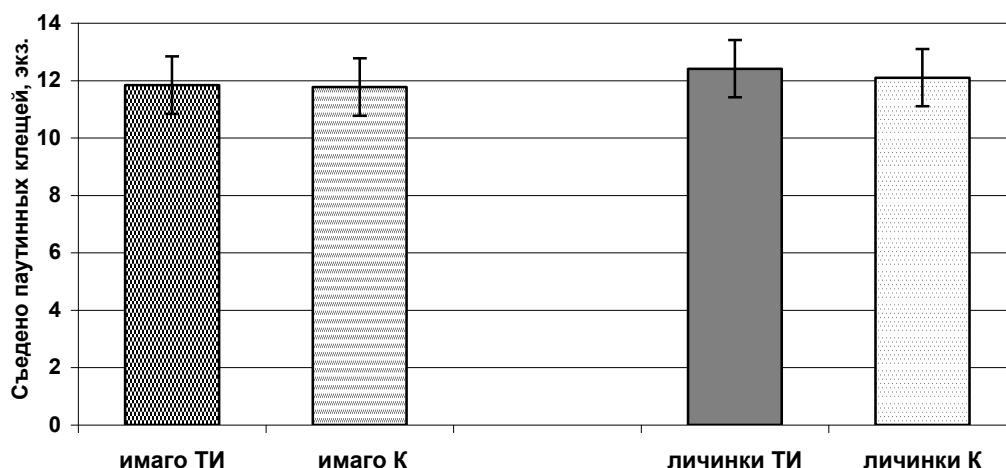


Рис. 4. Среднесуточная прожорливость фитосейулюса, прошедшего индивидуальный отбор на устойчивость к повышенным температурам, по отношению к имаго или личинкам паутиного клеща при оптимальной температуре (обозначения как на рис. 1)

Таким образом, на основании экспериментов по сравнительной оценке прожорливости фитосейулюса в отношении паутиного клеща – как имаго, так и личинок – мы можем заключить, что процесс массовой и индивидуальной селекции хищного клеща и сформировавшиеся в ее результате генетические особенности теплоустойчивых линий при оптимальных температурных условиях не меняют такое важное свойство хищника, как его прожорливость.

При повышенной температуре $+41^{\circ}\text{C}$ и экспозиции 5 часов у самок теплоустойчивых линий фитосейулюса прожорливость достоверно была выше, чем у контрольных самок (рис. 5) в отношении имаго паутиного клеща в 1,9 раза, а в отношении личинок – в 2,0 раза

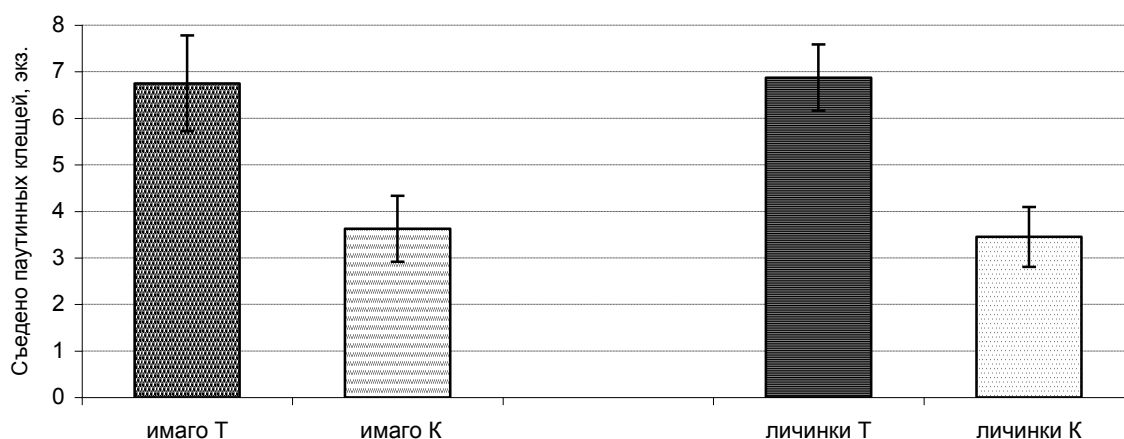


Рис. 5. Прожорливость теплоустойчивого фитосейулюса (Т) при питании имаго или личинками паутиного клеща в период обработки повышенной температурой $+41^{\circ}\text{C}$ за 5 часов (другие обозначения как на рис. 1)

При экспозиции 6 часов эти различия повышались в отношении имаго паутиного клеща до 2,5 раза, а в отношении личинок – до 2,7 раза.

5.2. Плодовитость

Оценку селектированных на теплоустойчивость линий фитосейулюса по признаку плодовитости мы проводили только при оптимальных температур-

ных условиях ($+24^{\circ}\text{C} - 26^{\circ}\text{C}$), которые обычно и стараются создать при его массовом разведении для производственных нужд.

Общая динамика плодовитости самок является важным показателем, который необходимо знать при массовом разведении полезных насекомых и клещей. Она определяется как интенсивностью, так и продолжительностью активной откладки яиц самками.

5.2.1. Общая плодовитость и продолжительность откладки яиц

Общую плодовитость оценивали для каждой самки индивидуально (рис. 6). Продолжительность откладки яиц самками фитосейулюса (рис. 7) определяется продолжительностью их жизни и сильно коррелирует с их общей плодовитостью ($r = 0,84 \pm 0,043$).

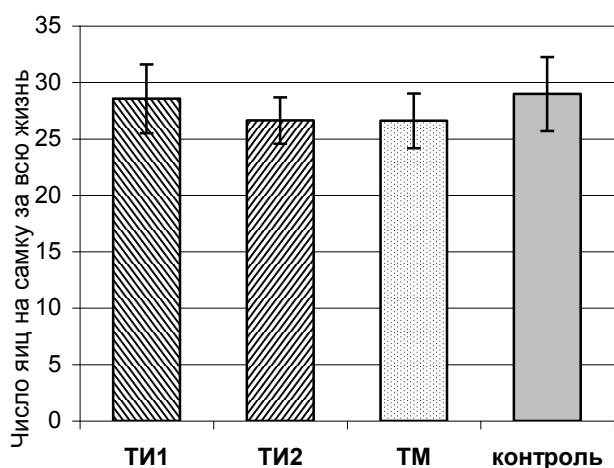


Рис. 6. Средняя плодовитость самок фитосейулюса из линий, селективируемых на устойчивость к повышенной температуре, и контрольных за весь период жизни (обозначения как на рис. 1)

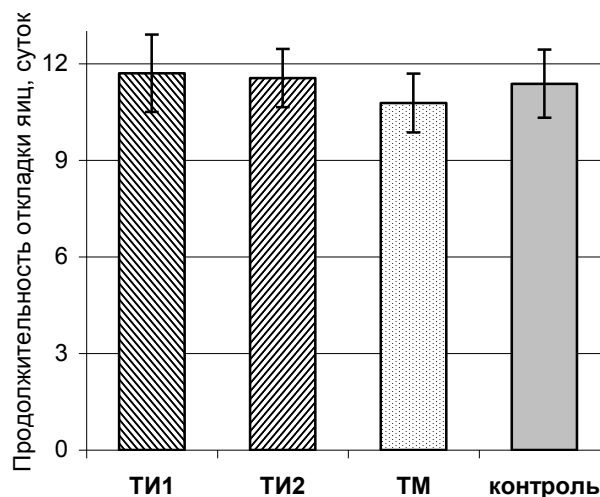


Рис. 7. Средняя продолжительность откладки яиц самками фитосейулюса из линий, селективируемых на устойчивость к повышенной температуре и контрольных (обозначения как на рис. 1)

Анализируя полученные результаты можно заключить, что при оптимальных температурах и избытке корма общая плодовитость самок фитосейулюса, в основном, определялась продолжительностью их жизни. Селектированные на устойчивость к повышенной температуре линии хищного клеща если и отличаются между собой и от контрольных клещей по показателям общей плодовитости и продолжительности откладки яиц, то незначительно. По результатам оценки 160-ти исследованных самок общая плодовитость составила в среднем $27,4 \pm 0,66$ яйца, а продолжительность откладки яиц $11,4 \pm 0,25$ суток, что совпадает с литературными данными (Бегляров, 1979).

5.2.2. Суточная плодовитость

По результатам наших наблюдений самки фитосейулюса до гибели откладывали как минимум 1 яйцо в сутки. Максимальное число отложенных за сутки яиц составило 6, но, такие суточные кладки встречались очень редко – 6 случаев на 1817 проанализированных.

В пределах повторностей средняя суточная плодовитость, рассчитанная за период жизни самок, варьировала. Более значительные отличия по этому показателю наблюдались между повторностями.

Самки всех линий, которые сохраняли жизнеспособность 11–12 дней, демонстрировали на протяжении этого периода примерно одинаковую сред-

несуточную плодовитость. Она варьировала около величины 2,5 яйца за сутки и в среднем составила $2,44 \pm 0,027$ яйца. У самок, проживших 13–15 дней, среднесуточная плодовитость несколько снижалась – особенно в линии ТИ2. Это и определило более низкий среднесуточный показатель в данной линии (табл. 4).

Таблица 4. Среднесуточная плодовитость самок (число яиц $\pm$ SE) линий фитосейулюса, селектируемых на устойчивость к повышенным температурам, и контрольной популяции

Линия	Повторность 1	Повторность 2	Повторность 3	Всего
ТИ1	$2,71 \pm 0,124$ fgh	$2,23 \pm 0,089$ abc	$2,50 \pm 0,085$ defg	$2,43 \pm 0,056$ cde
ТИ2	$2,68 \pm 0,120$ efgh	$2,07 \pm 0,071$ a	$2,38 \pm 0,083$ bcd	$2,31 \pm 0,051$ bc
ТМ	$2,76 \pm 0,125$ gh	$2,21 \pm 0,096$ ab	$2,51 \pm 0,078$ defg	$2,47 \pm 0,056$ def
контроль	$2,95 \pm 0,126$ h	$2,24 \pm 0,086$ abc	$2,60 \pm 0,071$ efg	$2,55 \pm 0,052$ defg

Анализируя результаты сравнения плодовитости можно сделать заключение о том, что селектированные на устойчивость к повышенной температуре хищные клещи сохраняют нормальную плодовитость. Следовательно, при селекции удалось избежать вредных последствий инбридинга по этому важному биологическому показателю качества. Если у хищных клещей из линии ТИ2 и была снижена интенсивность откладки яиц, то это снижение незначительно – на 9,5% по сравнению с контролем – и компенсировалось более продолжительным сроком откладки яиц или жизни самок.

5.3. Продолжительность развития и выживаемость

Продолжительность развития фитосейулюса мы оценивали количественно, фиксируя интервал времени от откладки яйца до развития из него взрослого клеща следующего поколения. Минимальная продолжительность развития составила четверо суток, а максимальная – семь. На 2–3-ий день из отложенных яиц появлялись нимфы первого возраста, а на 3–4-ый день – нимфы 2-го возраста. На 4–7-ой день появлялись имаго следующего поколения. Средние показатели продолжительности развития хищных клещей из селектированных на устойчивость к повышенной температуре линий фитосейулюса и контрольной популяции представлены в таблице 5.

Таблица 5. Средняя продолжительность развития фитосейулюса (суток $\pm$ SE), из селектируемых на устойчивость к повышенным температурам линий и контрольной популяции при оптимальных температурах ($+23^{\circ}\text{C}$ – $+27^{\circ}\text{C}$)

Линия	Повторность 1	Повторность 2	Повторность 3	Все повторности
ТИ1	$4,88 \pm 0,041$ bc	$5,64 \pm 0,035$ g	$5,68 \pm 0,035$ g	$5,49 \pm 0,023$ de
ТИ2	$4,92 \pm 0,036$ c	$5,53 \pm 0,035$ ef	$5,66 \pm 0,035$ g	$5,43 \pm 0,022$ d
ТМ	$4,74 \pm 0,038$ a	$5,86 \pm 0,041$ h	$5,60 \pm 0,034$ fg	$5,44 \pm 0,026$ d
контроль	$4,80 \pm 0,039$ ab	$5,79 \pm 0,035$ h	$5,62 \pm 0,030$ fg	$5,47 \pm 0,023$ de

Следует отметить, что выявленная в 1-ой и 2-ой повторностях достоверность различий между вариантами опытов определяется, в основном, относительно большим объемом проанализированного материала. При таких условиях

улавливается даже влияние небольших различий в градиенте температур, возникающих в термостатированном помещении и случайным образом сказывающихся на продолжительности развития у хищных клещей из разных линий.

Результаты двухфакторного дисперсионного анализа и объединение данных всех повторностей подтвердило это заключение.

Следовательно, в условиях оптимальных температур продолжительность развития хищных клещей как из контрольной популяции, так и из селективируемых линий примерно одинакова, даже в инбредных линиях ТИ1 и ТИ2. Различия, если и существуют, то они статистически недостоверные. Возможно, это является результатом естественного отбора, определяемого методикой проведения экспериментов по отбору хищных клещей на теплоустойчивость.

Сходное заключение сделано и в отношении выживаемости фитосейюлюса на преимагинальных стадиях развития, которая при оптимальных температурных условиях и избытке корма оказалась высокой и в среднем по 3-м повторностям составила: $99,5 \pm 0,21\%$ в контроле и $97,8 \pm 0,43\%$, $99,3 \pm 0,25\%$, $99,8 \pm 0,13\%$ в линиях ТИ1, ТИ2 и ТМ, соответственно.

6. Оценка пригодности теплоустойчивых линий фитосейюлюса для использования в производственных условиях

6.1. Сохранение свойств при прекращении отбора

Важным показателем генетической однородности селективируемой линии по наследственным факторам, определяющим ее специфический признак, является сохранение его при прекращении отбора. Для оценки сохранения признака теплоустойчивости и основных показателей качества хищных клещей в селективируемых нами линиях после 14-ти поколений индивидуального отбора в линии ТИ1 и 12-ти поколений в линии ТИ2 в одной из сублиний отбор прекратили. В течение времени, которое соответствовало 10-ти поколениям индивидуального отбора, хищные клещи размножались массово (как в контрольной популяции). Таким образом были получены линии – ТИ1/М и ТИ2/М. Эксперимент повторили после 47-ого поколения индивидуального отбора на устойчивость к повышенной температуре в линии ТИ1 и 44-ого поколения в линии ТИ2, добавив еще вариант с отводкой из линии ТМ, заложенной после 68-го поколения массового отбора от одной самки. Эту линию обозначили как ТМ/М. Материалом для 3-й повторности этой серии экспериментов послужили хищные клещи из селектированных нами линий, переданные в биолaborаторию тепличного комбината ЗАО «Весна – Тихвин» в середине марта 2010 года, и размножавшиеся там для использования в производственных теплицах (см. 6.3). Эту группу хищных клещей обозначили ТП (теплоустойчивая, производственная).

Через 104 дня массового размножения клещи были протестированы на устойчивость к температуре $+41^{\circ}\text{C}$ и экспозиции 5 часов – 1-ая повторность. Оценку выживаемости при температуре $+41^{\circ}\text{C}$ и экспозиции 6 часов из тех же линий фитосейюлюса, в сравнении с выживаемостью хищных клещей из постоянно селективируемых линий (ТИ1, ТИ2, ТМ) и контрольной популяции,

провели через 91 день от момента прекращения отбора – 2-ая повторность (табл. 6).

Таблица 6. Выживаемость фитосейулюса, из селектированных на теплоустойчивость линий через 3 месяца после прекращения отбора (температура +41°C)

Линия	1-ая повторность		2-ая повторность		Всего	
	обработано самок фитосейулюса					
	всего	выжило, %±SE	всего	выжило, %±SE	всего	выжило, %±SE
ТИ1/М	105	64,7 ± 4,66 bc	35	60,0 ± 8,28 bc	140	63,6 ± 4,07 c
ТИ1	35	68,6 ± 7,85 abc	35	71,4 ± 7,63 abc	70	70,0 ± 5,48 abc
ТИ2/М	105	68,6 ± 4,53 abc	70	67,1 ± 5,61 abc	175	68,0 ± 3,53 abc
ТИ2	28	82,1 ± 7,24 a	28	75,0 ± 8,18 abc	56	78,6 ± 5,48 ab
ТМ/М	-	-	28	64,3 ± 9,06 abc	28	64,3 ± 9,06 abc
ТМ	105	57,1 ± 4,83 c	105	64,8 ± 4,66 bc	210	61,0 ± 3,37 c
контроль	105	14,3 ± 3,41 d	98	23,5 ± 4,28 d	203	18,7 ± 2,74 d

Результаты показали, что прекращение отбора и массовое размножение отселектированных клещей в течение 3-х месяцев не привело к потере признака теплоустойчивости. Прожорливость (рис. 8) и показатели репродуктивного потенциала остались на уровне постоянно селектируемых.

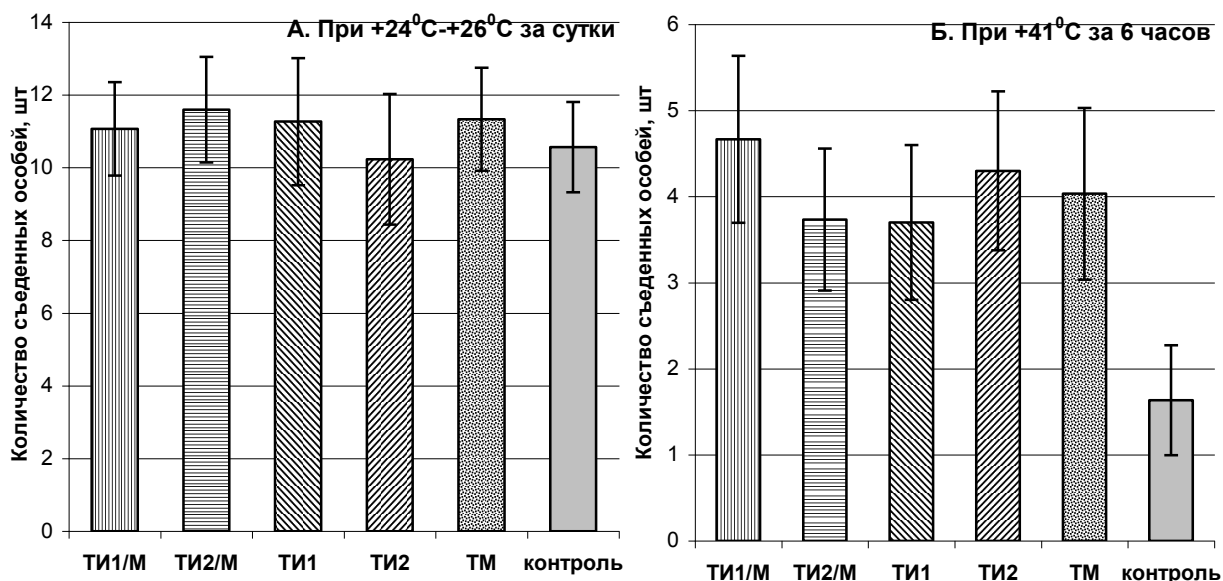


Рис. 8. Соотношение среднего количества паутинных клещей, съедаемых фитосейулюсом из селектированных на термоустойчивость линии при оптимальных (+24° – +26°C) и повышенной (+41°C) температурах после прекращения отбора и при его продолжении

6.2. Оценка эффективности теплоустойчивых линий фитосейулюса в модельных экспериментах

Модельные эксперименты проводили в оранжереях кафедры биологической защиты растений СПбГАУ в летний период 2008 и в 2009 годов. В двух изолированных боксах оранжереи были выращены растения огурца и искусственно заселены паутинным клещом. В одной из секций выпускали теплоустойчивого фитосейулюса, в другой – обычного. Соотношение хищника и жертвы 1:20.

В опыте 2008 года – примерно через четыре недели после выпуска – се-

лектированный фитосейулюс резко сократил плотность паутинных клещей, а через пять недель полностью их уничтожил (рис. 9А). Численность неселектированного фитосейулюса также возрастала, но не интенсивно. В этом варианте полного уничтожения паутинных клещей мы не наблюдали. В опыте 2009 года подавление численности вредителя до уровня, ниже исходного, в варианте с селектированным фитосейулюсом было достигнуто через 4 недели после выпуска, тогда как в варианте с обычным фитосейулюсом – только через 6 недель (рис. 9Б).

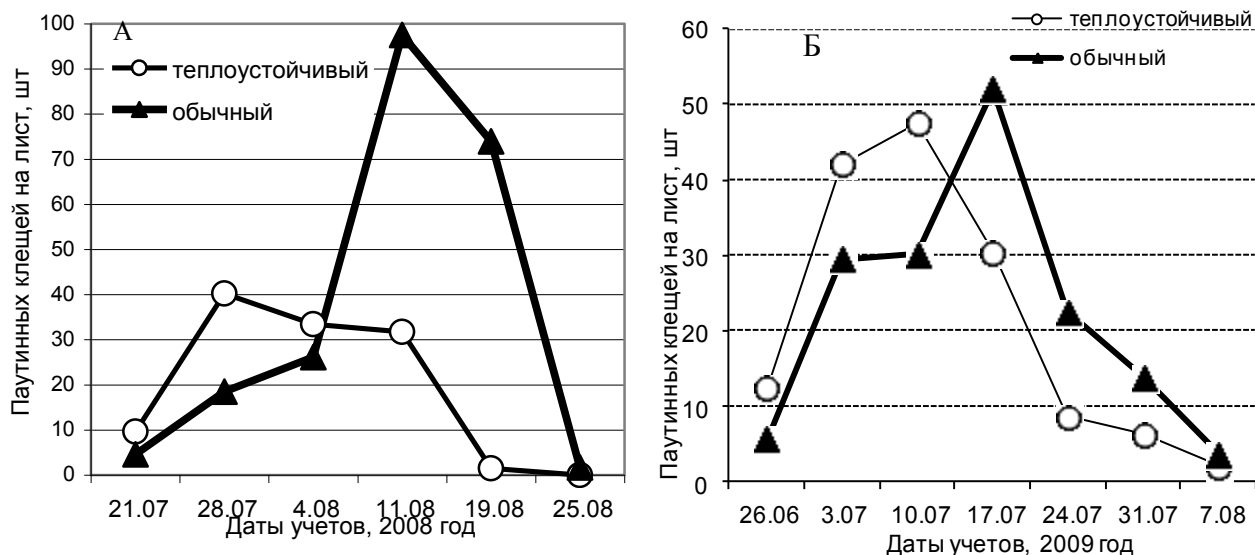


Рис. 9. Динамика численности паутинного клеща на листьях огурца сорта «Турнир» при выпуске теплоустойчивого и обычного фитосейулюса (оранжерея кафедры биологической защиты растений СПбГАУ; А – опыт 2008, Б – 2009 годов)

Результаты модельных экспериментов показали, что фитосейулюс из селектированных на теплоустойчивость линий быстрее адаптировался, начинал интенсивнее размножаться, сдерживать развитие паутинного клеща и приводить к снижению численности вредителя. Полученные результаты позволили испытать теплоустойчивые линии в производственных условиях.

6.3. Испытание селектированных линий фитосейулюса в производственных условиях

В 2010 году мы провели сравнительные испытания эффективности селектируемых на теплоустойчивость линий фитосейулюса с используемым в хозяйстве ЗАО «Весна – Тихвин» (Ленинградская область) хищным клещом.

Как видно из рисунка 10А, в обоих случаях был получен эффект подавления численности паутинного клеща с помощью данного биологического агента. Так, на 4-й день после выпуска фитосейулюса количество паутинного клеща уменьшилось в обоих вариантах, но в варианте, с теплоустойчивым фитосейулюсом – значительно сильнее. Более существенное и достоверное снижение плотности паутинного клеща – произошло за последующие 3 дня. Уже на 7-ой день после выпуска в варианте с теплоустойчивым фитосейулюсом отмечали в 2 раза больше хищных клещей на лист огурца, чем в контрольном варианте (рис. 10Б). При этом плотность популяции паутинного

клеща выровнялась, несмотря на исходное 2-кратное преобладание вредителя в опытном варианте.

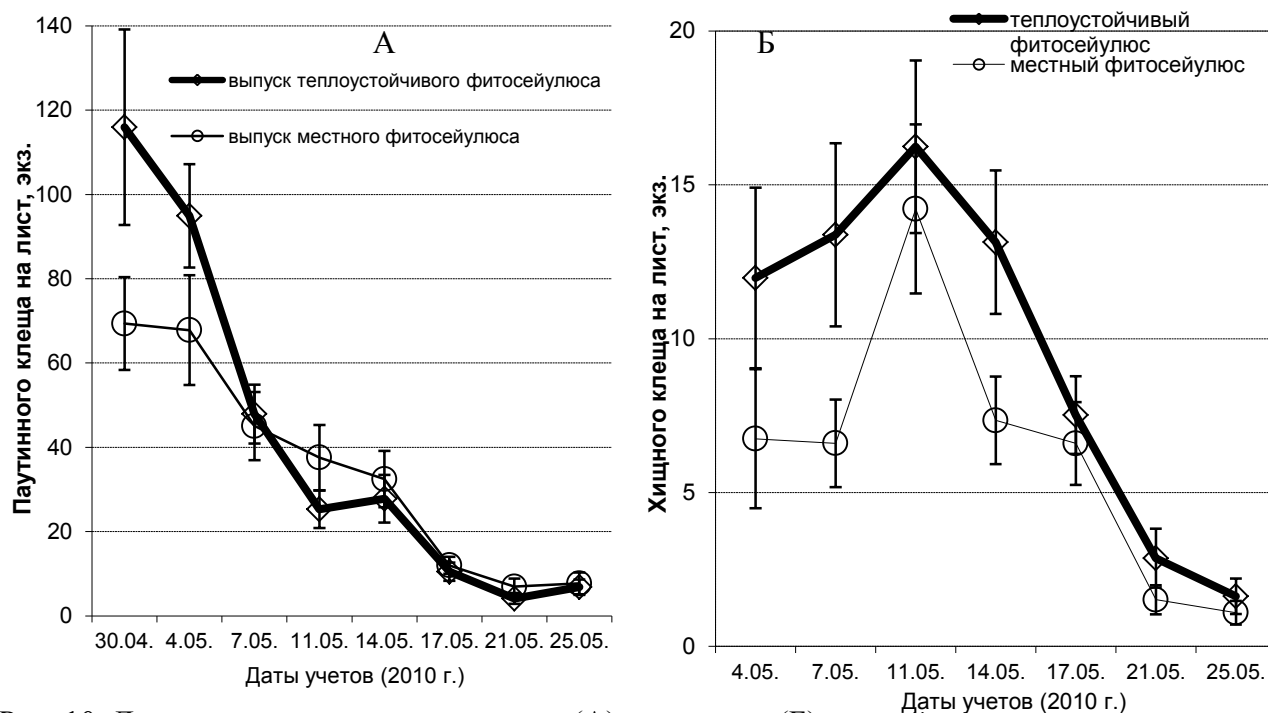


Рис. 10. Динамика плотности паутинного (А) и хищного (Б) клещей в верхнем ярусе огурца сорта «Медиа» при выпуске селективированных на теплоустойчивость линий и местной популяции фитосейулюса (ЗАО «Весна–Тихвин» 2010 г.)

Результаты 3-й повторности показали, что это справедливо и в отношении отселектированных нами линий фитосейулюса при размножении в производственных условиях, по крайней мере, в течение 8-ми месяцев, что, на наш взгляд позволяет назвать их породами.

Выводы

1. Путем массовой селекции фитосейулюса создана теплоустойчивая линия (ТМ), прошедшая более 100 поколений отбора, стабильно наследующая этот признак и существенно превосходящая по выживаемости в условиях повышенных температур используемые в тепличных хозяйствах популяции этого хищного клеща.

2. Показано, что на ранних этапах селекции на устойчивость к повышенным температурам перерывы в массовом отборе существенно снижают эффективность селекционного процесса. Массовый прерывистый отбор позволяет создавать линии хищного клеща фитосейулюса, стабильно наследующие признак теплоустойчивости, только спустя большое число поколений (в нашем случае более 60-ти) и уменьшая интервалы между поколениями отбора.

3. Впервые разработана методика семейного выкармливания хищного клеща фитосейулюса на паутинном клеще, позволяющая осуществлять его инбредное разведение при гарантированном скрещивании братьев и сестер.

4. После 53-х поколений массовой прерывистой селекции из линии ТМ методом индивидуального отбора при жестком инбредном разведении (скрещивания брат x сестра) и постоянном отборе при повышенных температурах получены 2 линии фитосейулюса (ТИ1 и ТИ2), демонстрирующие повышенную устойчивость к высоким температурам и стабильное наследова-

ние этого признака в поколениях.

5. Уровень прожорливости теплоустойчивых линий фитосейулюса в отношении паутинного клеща при оптимальных температурных условиях содержания хищника и жертвы не изменился.

6. Установлено, что при повышенной температуре +41°C и экспозиции 5 часов у самок теплоустойчивых линий фитосейулюса прожорливость выше, чем у контрольных самок в отношении имаго паутинного клеща в 1,9 раза, а в отношении личинок – в 2,0 раза. При экспозиции 6 часов эти различия повышаются в отношении имаго паутинного клеща до 2,5 раза, а в отношении личинок – до 2,7 раза.

7. Различия по общей плодовитости, продолжительности откладки яиц и продолжительности развития между отселектированными линиями хищного клеща фитосейулюса ТМ, ТИ1 и ТИ2 и клещами из контрольной популяции не проявились.

На преимагинальных стадиях развития линий ТИ1 отмечено снижение выживаемости хищных клещей по сравнению с контрольной популяцией на 1,7%, что в практическом отношении не имеет значения.

8. Массовое размножение отселектированных линий фитосейулюса в течение 8-ми месяцев в производственных условиях показало, что хищные клещи сохранили свойство теплоустойчивости; это позволило рекомендовать их для использования в практике биологической защиты растений от паутинного клеща в теплицах.

9. В модельных экспериментах в оранжереях, проведенных в течение 2-х лет, установлено, что численность теплоустойчивого хищного клеща в верхнем и среднем ярусах огурца при исходном соотношении хищник и жертва 1 : 20 увеличивалась в несколько раз быстрее, чем численность неселектированного клеща.

Степень проявления преимуществ теплоустойчивых линий зависит от температурных условий и интервала времени после выпусков.

10. В производственных условиях ЗАО «Весна–Тихвин» при выпуске фитосейулюса в соотношении 1:10 хищные клещи из отселектированных линий быстрее подавляли численность паутинного клеща. На 7 день после выпуска в варианте с теплоустойчивым клещом наблюдалось в 2 раза больше хищных клещей на лист, чем в контрольном варианте. Плотность в сравниваемых вариантах выравнивалась, несмотря на исходное двукратное преимущество вредителя в контрольном варианте.

Практические рекомендации

Выделенные теплоустойчивые линии фитосейулюса рекомендуется использовать в практике защиты выращиваемых в теплицах растений от паутинного клеща, особенно при повышенных температурах.

Разработанные методические приемы селекции фитосейулюса на теплоустойчивость могут быть использованы при селекции этого хищного клеща по другим практически значимым признакам, а также при селекции других видов полезных клещей.

Публикации из перечня российских рецензируемых научных журналов

1. Анисимов, А.И. Эффективность амблисейуса зависит от видовой чистоты биоматериала / А.И. Анисимов, С.А. Доброхотов, **Л.Г. Максимова** // Защита и карантин растений. – 2004. – № 11. – С. 24–25.
2. Анисимов, А.И. Динамика ответов на отбор хищного клеща – *Phytoseiulus persimilis* Ath.-Henr. при индивидуальном разведении // А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2008. – № 8. – С. 29–30.
3. Доброхотов, С.А. На пути к органическому земледелию / С.А. Доброхотов, А.И. Анисимов, Н.А. Белякова, **Л.Г. Максимова**, Г.О. Орлова // Защита и карантин растений. – 2011. – № 12. – С. 19–23.

Публикации в других изданиях

4. **Максимова, Л.Г.** Начальный этап селекции хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* на устойчивость к повышенной температуре / Л.Г. Максимова, А.И. Анисимов // Фитосанитарное оздоровление экосистем: материалы II Всерос. съезда по защите растений. Т. 2, (Санкт-Петербург, 5–10 дек. 2005 г.). – СПб: Всерос. НИИ защиты растений, 2005. – С. 82–84.
5. Анисимов, А.И. Оценка прожорливости хищного клеща фитосейулюса, селектированного на устойчивость к повышенной температуре / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования: сб. науч. тр. СПбГАУ, 2007. Ч. I. – СПб, 2007. – С. 151–157.
6. Анисимов, А.И. Массовая селекция хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* на устойчивость к повышенной температуре / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Информ. бюл. ВПРС МОББ. – 2007. – № 38. – С. 19–23.
7. **Максимова, Л.Г.** Выделение линии хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot, устойчивой к повышенной температуре / Л.Г. Максимова, А.И. Анисимов // Достижения энтомологии на службе агропромышленного комплекса, лесного хозяйства и медицины: тез. докл. XIII съезда РЭО, (Краснодар, 9–15 сент. 2007 г.). – Краснодар, – 2007. – С. 126–127.
8. Anisimov, A.I. Selection of predatory mite *Phytoseiulus persimilis* A.-H. by resistance to high temperature / A.I. Anisimov, **L.G. Maksimova** // 5th international scientific conference of Iran and Russia on agricultural development problems: heads of reports (Saint Petersburg, October 8–9, 2009). – Saint Petersburg, – 2009. – P. 126–128.
9. Анисимов, А.И. Селекция хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* А.-Н. на устойчивость к повышенной температуре / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // V Международная научная конференция Ирана и России по проблемам развития сельского хозяйства: тез. докл. – СПб: СПбГАУ, 2009. – С. 128–129.
10. Анисимов, А.И. Индивидуальная селекция хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* Ath.-Henr. на устойчивость к повышенной температуре / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Защита растений в условиях закрытого грунта: перспективы XXI века: информ. бюл. ВПРС / МОББ. – Минск: Несвиж, 2010. – С. 18–25.

11. **Максимова, Л.Г.** Индивидуальное семейное разведение хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* Ath.-Henr. / Л.Г. Максимова // Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования: сб. науч. тр. СПбГАУ. – СПб, 2010. – С. 75–77.
12. Лебедева, Д.В. Этап индивидуального отбора на устойчивость к температурам +43 и +42⁰С в линии ТИ2 хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* / Д.В. Лебедева, **Л.Г. Максимова**, А.И. Анисимов // Вестн. студ. науч. о-ва СПбГАУ. – СПб, 2011. – С. 180–185.
13. Анисимов, А.И. Испытание термоустойчивых линий хищного клеща фитосейулюса в производственных условиях / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Научное обеспечение развития АПК в условиях реформирования: сб. науч. тр. СПбГАУ. – СПб, 2012. – С. 108–111.
14. Анисимов, А.И. Термоустойчивые линии фитосейулюса – *Phytoseiulus persimilis* А.–Н. (Mesostigmata, Phytoseiidae) для борьбы с паутинным клещом - *Tetranychus urticae* Koch (Trombidiformes, Tetranychidae) в теплицах / А.И. Анисимов, **Л.Г. Максимова** // Материалы XIV съезда Рус. энтомол. о-ва. – (Санкт-Петербург, 27 августа – 1 сентября 2012 г.). – СПб, 2012. – С. 23.