

Анализ фитосанитарного риска *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli* для семян тыквенных культур

О.Ю. СЛОВАРЕВА¹, Г.Н. БОНДАРЕНКО²

^{1,2} ФГБУ «Всероссийский центр карантине растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия

¹ ORCID 0000-0001-6022-5955,
e-mail: slovareva.olga@gmail.com

² ORCID 0000-0002-3826-1009,
e-mail: reseachergm@mail.ru

АННОТАЦИЯ

В ходе работы впервые проведен анализ фитосанитарного риска (АФР) патогенных грибов *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli* для подкарантинной продукции – семян тыквенных культур. Возбудитель черной гнили тыквенных культур *Diaporthe cucurbitae* может являться причиной гибели проростков при раннем заражении. На плодах растений-хозяев фитопатоген вызывает симптомы в виде коричневых мягких впалых повреждений неправильной формы, приводя к существенному ухудшению товарных качеств. Главный путь распространения гриба – семенной материал тыквенных культур. Возбудитель микоза способен передаваться механически между растениями при проведении сельскохозяйственных мероприятий, с помощью ветра и капельно-жидкой влаги, а также сохраняться в растительных остатках, запуская новый цикл развития болезни в последующем вегетационном периоде. *Stagonosporopsis citrulli* относится к группе возбудителей вязкой гнили, состоящей из трех морфологически похожих, но генетически разных видов: *Stagonosporopsis citrulli*, *Stagonosporopsis cucurbitacearum* и *Stagonosporopsis caricae*. Заражение может произойти на листьях, стеблях и плодах. Возбудитель может передаваться через проростки из зараженных семян. В связи с повсеместным выращиванием растений-хозяев на территории Российской Федерации и возможными негативными последствиями проникновения и распространения перечисленных выше вредных организмов, принято решение о проведении АФР в рамках исследования фитосанитарной безопасности семян тыквенных культур. Результаты АФР показали, что *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli* способны нанести вред производству тыквенных культур в России, но показатель потенциального ущерба указанных фитопатогенов низкий, поэтому они не рекомендованы для включения в перечень регулируемых вредных организмов.

Pest risk analysis of *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli* for Cucurbitaceae seeds

O.YU. SLOVAREVA¹, G.N. BONDARENKO²

^{1,2} FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIIKR”), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

² Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education “Peoples’ Friendship University of Russia”, Moscow, Russia

¹ ORCID 0000-0001-6022-5955,
e-mail: slovareva.olga@gmail.com

² ORCID 0000-0002-3826-1009, e-mail: reseachergm@mail.ru

ABSTRACT

In the course of the work, for the first time, a pest risk analysis (PRA) was carried out for the pathogenic fungi *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli* for regulated products – Cucurbitaceae seeds. The agent of black rot *Diaporthe cucurbitae* can cause death of seedlings in case of early infection. On host plants fruits, the phytopathogen causes symptoms in the form of brown, soft, sunken lesions of irregular shape, leading to a significant deterioration in commercial qualities. The main pathway of the fungus is the Cucurbitaceae seed material. The causative agent of mycosis is able to be transmitted mechanically between plants during agricultural activities, with the help of wind and drop-liquid moisture, and also persist in plant debris, starting a new cycle of disease development in the next growing season. *Stagonosporopsis citrulli* belongs to the group of viscous rot pathogens, consisting of three morphologically similar, but genetically different species: *Stagonosporopsis citrulli*, *Stagonosporopsis cucurbitacearum* and *Stagonosporopsis caricae*. Infection can occur on leaves, stems and fruits. The pathogen can be transmitted through seedlings from infected seeds. Due to the widespread cultivation of host plants on the territory of the Russian Federation and the possible negative consequences of the introduction and spread of the above-stated pests, it was decided to conduct a PRA as part of a study of the phytosanitary safety of Cucurbitaceae seeds. The PRA results showed that *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli* can harm the production of Cucurbitaceae in Russia, but the potential damage of these phytopathogens is low, so they are not recommended for inclusion in the list of regulated pests.

Ключевые слова. Карантин растений, семенная инфекция, фитосанитарная безопасность, фитопатоген, потенциальный ущерб сельскохозяйственной продукции.

ВВЕДЕНИЕ



онцепция оценки (анализа) фитосанитарного риска как основного средства научного и технического обоснования фитосанитарных мер получила развитие после принятия в 1994 г. Соглашения по применению санитарных и фитосанитарных мер (СФС). В соответствии с определением, данным процедуре в СФС, оценка риска – это «оценка вероятности проникновения, укоренения (акклиматизации) или распространения вредителя или заболевания в пределах территории импортирующей страны применительно к санитарным или фитосанитарным мерам, которые могли бы быть применены, и связанных с этим потенциальных биологических и экономических последствий» (<http://portal.fsvps.ru/importExport/wto/trial/agreement.htm>, 2022).

В соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 10.08.2016 № 770 «Об утверждении Положения об осуществлении анализа фитосанитарного риска» и Федеральным законом от 21.07.2014 № 206-ФЗ «О карантине растений», анализ фитосанитарного риска осуществляется Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору в отношении вредных организмов в целях определения способности или неспособности вредного организма быть карантинным объектом, необходимости регулирования распространения карантинного объекта и (или) принятия в отношении него карантинных фитосанитарных мер путем оценки биологических или других научных данных, экономических данных, а также в целях формирования и пересмотра перечня карантинных объектов (<http://government.ru/docs/all/107858/>, 2022).

Семена тыквенных культур играют важную роль в сельскохозяйственном производстве и вместе с тем являются путем распространения фитопатогенов в ходе международной торговли. Семена овощных культур, включая тыквенные, производят в целом ряде стран: США, Франции, Перу, Италии, Чили, Китае, Нидерландах, Таиланде, Индии, Турции, Великобритании, Южной Корее, Израиле, Германии, Бразилии, Польше, Мексике, Гватемале, Аргентине, Южно-Африканской Республике, Кении, Республике Беларусь, Республике Молдова, Португалии, Иордании и других (<http://www.fao.org/faostat>, 2021). В ходе оценки фитосанитарного риска, связанного с семенами тыквенных культур, определен список вредных организмов, которые могут передаваться с данным видом подкарантинной продукции. В список вошли 23 вида фитопатогенных организмов, 5 из которых считаются

Key words. Plant quarantine, seed infection, phytosanitary safety, phytopathogen, potential damage to agricultural products.

INTRODUCTION

The concept of pest risk assessment (analysis) as the main means of scientific and technical substantiation of phytosanitary measures was developed after the adoption in 1994 of the Agreement on the Application of Sanitary and Phytosanitary Measures (SPS). As defined by the SPS procedure, risk assessment is “an assessment of the likelihood of introduction, adaptation or spread of a pest or infection within the territory of an importing country in relation to the sanitary or phytosanitary measures that could be applied and the associated potential biological and economic consequences” (<http://portal.fsvps.ru/importExport/wto/trial/agreement.htm>, 2022).

In accordance with Decree of the Government of the Russian Federation No. 770 dated August 10, 2016 “On Approval of the Regulations on the Implementation of Phytosanitary Risk Analysis” and Federal Law No. 206-FZ dated July 21, 2014 “On Plant Quarantine”, pest risk analysis is carried out by the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance in order to determine the ability or inability of a pest to be a quarantine object, the need to regulate the spread of a quarantine object and (or) take quarantine phytosanitary measures against it by assessing biological or other scientific data, economic data, as well as in order to form and revision of the list of quarantine objects (<http://government.ru/docs/all/107858/>, 2022).

Cucurbitaceae seeds play an important role in agricultural production and are also a pathway for the spread of plant pathogens in international trade. Vegetable seeds, including Cucurbitaceae seeds, are produced in a number of countries: the USA, France, Peru, Italy, Chile, China, the Netherlands, Thailand, India, Turkey, Great Britain, South Korea, Israel, Germany, Brazil, Poland, Mexico, Guatemala, Argentina, Republic of South Africa, Kenya, Republic of Belarus, Republic of Moldova, Portugal, Jordan and others (<http://www.fao.org/faostat>, 2021). In the course of the pest risk assessment associated with Cucurbitaceae seeds, a list of pests that can be transmitted with this type of regulated products was determined. The list includes 23 species of phytopathogenic organisms, 5 of which are considered absent on the territory of the Russian Federation and are not regulated by the Common List of Quarantine Objects of the EAEU (Slovareva, Bondarenko, 2021). The specified category of harmful organisms contains 2 fungi species

отсутствующими на территории РФ и не регулируются Единым перечнем карантинных объектов ЕАЭС (Словарева, Бондаренко, 2021). Указанная категория вредных организмов содержит 2 вида грибов, для которых анализ фитосанитарного риска ранее не проводился, – *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli*. Сказанное обуславливает актуальность данного исследования, цель которого – разработка рекомендаций по контролю этих двух фитопатогенов, передающихся семенами тыквенных культур, на основании анализа их фитосанитарного риска и оценки потенциального ущерба.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ фитосанитарного риска осуществляли в соответствии с методикой, утвержденной приказом Минсельхоза России от 05.02.2018 № 46 «Об утверждении Методики осуществления анализа фитосанитарного риска». Согласно методике, на первом этапе проводили изучение номенклатуры, таксономии и фитосанитарного статуса патогенов, выбранных для АФР. На основании литературных данных изучали географию и пути распространения *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli*, их биологические особенности, существующие диагностические методы, вредоносность и методы их контроля. Полученные данные использовали для проведения АФР, в ходе которого для каждого изучаемого вида осуществляли количественную оценку риска, а также оценивали вероятность акклиматизации возбудителей на территории РФ и потенциально связанные с этим экономические последствия. Численное значение потенциального ущерба (ПУ) рассчитывали на основе значений вероятностей проникновения и акклиматизации, полученных в ходе количественной оценки фитосанитарного риска вредных организмов. Определение соответствия фитопатогенов критериям карантинных организмы осуществляли путем сравнения численного значения ПУ с принятым в используемой методике условным пороговым показателем 1,25. Так, если численное значение ПУ ниже 1,25, патоген не отвечает критериям карантинного организма.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анаморфа гриба, вызывающего черную гниль (black rot of cucumber, soft rot of melon), имеет название *Phomopsis cucurbitae* McKeen (<http://www.speciesfungorum.org>, 2022). Телеоморфа указанного вида, первоначально названная *Diaporthe melonis* Beraha & M.J. O'Brien (Beraha, O'Brien, 1979), в настоящее время имеет название *Diaporthe cucurbitae* (McKeen) Udayanga & Castlebury (<http://www.speciesfungorum.org>, 2022). *Diaporthe cucurbitae* является представителем семейства Diaporthaceae класса Sordariomycetes аскомицетовых грибов.

Diaporthe cucurbitae поражает растения рода *Cucumis* (Garibaldi et al., 2011). Также гриб способен поражать сою *Glycine max* (Santos et al., 2011), аннону чешуйчатую (сахарное яблоко) *Annona squamosa* (Ola et al., 2014) и карапу гвианскую *Carapa guianensis* (Ferreira et al., 2015).

Ранние симптомы черной гнили, вызываемой грибным фитопатогеном *Diaporthe cucurbitae*, на плодах представляют собой коричневые мягкие впалые повреждения неправильной формы до 10 см в диаметре. Пикники на поверхности при

for which pest risk analysis has not been previously carried out – *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli*. The stated-above information determines the relevance of this study, the purpose of which is to develop recommendations to control these two phytopathogens transmitted by Cucurbitaceae seeds, based on their pest risk analysis and potential damage assessment.

MATERIALS AND METHODS

Pest risk analysis was carried out in accordance with the methodology approved by the Order of the Ministry of Agriculture of Russia dated February 5, 2018 No. 46 “On Approval of the Pest Risk Analysis Methodology”. According to the methodology, at the first stage, the nomenclature, taxonomy and phytosanitary status of pathogens selected for PRA were studied. Based on the literature data, we studied the geography and pathways of *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli*, their biological features, existing diagnostic methods, harmfulness and methods of their control. The data obtained were used to conduct a PRA, during which a quantitative risk assessment was carried out for each studied species, as well as the probability of adaptation of pathogens in the territory of the Russian Federation and the potentially associated economic consequences. The numerical value of potential damage (PD) was calculated based on the values of the probabilities of introduction and adaptation obtained during the quantitative assessment of the PRA. The determination of the conformity of phytopathogens to the criteria of quarantine pests was carried out by comparing the numerical value of PD with the conditional threshold indicator of 1.25 adopted in the method used. So, if the numerical value of PD is below 1.25, the pathogen does not meet the criteria for a quarantine pest.

RESULTS AND DISCUSSION

Anamorph of the fungus causing black rot of cucumber, soft rot of melon, is called *Phomopsis cucurbitae* McKeen (<http://www.speciesfungorum.org>, 2022). Teleomorph of the stated species, originally named *Diaporthe melonis* Beraha & M.J. O'Brien (Beraha, O'Brien, 1979), is now called *Diaporthe cucurbitae* (McKeen) Udayanga & Castlebury (<http://www.speciesfungorum.org>, 2022). *Diaporthe cucurbitae* is a member of the family Diaporthaceae of the class Sordariomycetes of ascomycete fungi.

Diaporthe cucurbitae damaged *Cucumis* plants (Garibaldi et al., 2011). Also, the fungus is able to infect soybeans *Glycine max* (Santos et al., 2011), sugar apple *Annona squamosa* (Ola et al., 2014) and crabwood *Carapa guianensis* (Ferreira et al., 2015).

Early symptoms of black rot caused by the fungal phytopathogen *Diaporthe cucurbitae* on the fruits are brown soft sunken lesions of irregular shape up to 10 cm in diameter. There are no pycnidia on the surface. Inside the fruit, a soft, water-soaked spongy rot adheres to the sunken area of the skin. Rot has almost round edges and is easily separated from healthy tissue. With artificial infection of fruits and

этом отсутствуют. Внутри плода мягкая, пропитанная водой губчатая гниль прилегает к впалой области кожуры. Гниль имеет почти круглые края и легко отделяется от здоровых тканей. При искусственном заражении плодов и инкубировании при температуре 16 ± 1 °C в темноте первые симптомы появляются через 4 дня. Из пораженных симптоматических тканей можно проводить повторную изоляцию (Garibaldi et al., 2011).

При культивировании на картофельном декстрозном агаре при температуре 24 ± 1 °C и 16-часовом световом режиме колонии гриба сначала имеют беловатую, затем светло-коричневую окраску, образовывают темные пикники диаметром 0,5 мм, которые выделяют многочисленные конидии, принадлежащие к двум типам: А и В (Garibaldi et al., 2011).

Фитопатоген распространяется на большие расстояния в ходе международной торговли семенами и уже отмечен в Италии (Garibaldi et al., 2011), Мьянме (Zaw et al., 2020), Канаде (Udayanga et al., 2011), США (Beraha, O'Brien, 1979), Хорватии (Santos et al., 2011), Японии (Ohsawa, Kobayashi, 1989), Испании, Индонезии, Бразилии, Пуэрто-Рико, Индии, Эквадоре, Коста-Рике (<https://www.gbif.org/ru/species/5253168>, 2022) и Германии (Ola et al., 2014). Попав в поле, гриб распространяется растительными остатками, ветром и капельно-жидкой влагой. Возбудитель черной гнили запрещен к ввозу на территорию Западной Австралии (<https://www.agric.wa.gov.au/organisms/177174>, 2022). В остальных штатах Австралии и во всех странах мира не регулируется (<https://gd.eppo.int>, 2022).

Диагностику *Diaporthe cucurbitae* проводят путем культурально-морфологического анализа и оптической микроскопии. Изучение параметров роста гриба на питательных средах, морфологические особенности колоний, характеристики пикниц и конидий позволяют проводить идентификацию до рода, но подтверждение видовой принадлежности требует применения молекулярно-генетических методов.

Методы борьбы с данным видом гриба мало изучены. Общими методами борьбы с фомопсисами являются севооборот, запахивание растительных остатков и выращивание устойчивых сортов. Одной из стратегий может являться внесение биопрепараторов с содержанием антагониста возбудителей фомопсисов – *Bacillus subtilis* (Диденко и др., 2014).

Анализ фитосанитарного риска показал, что *Diaporthe cucurbitae* способен проникнуть в Российскую Федерацию и акклиматизироваться на большей части южной территории страны, а также в защищенном грунте. При этом числовое значение потенциального экономического ущерба, согласно расчетным данным, ниже условного порогового значения (1,25) показателя и составляет 0,94. Таким образом, *Diaporthe cucurbitae* не отвечает критериям карантинного для Российской Федерации организма.

Вторым целевым объектом исследования являлся возбудитель вязкой гнили стеблей тыквенных *Stagonosporopsis citrulli* M.T. Brewer & J.E. Stewart (Stewart et al., 2015). Указанный вид принадлежит к семейству Didymellaceae класса Dothideomycetes аскомицетовых грибов. Данные о присутствии *Stagonosporopsis citrulli* в перечне регулируемых видов отсутствуют (<https://gd.eppo.int>, 2022).

incubation at a temperature of 16 ± 1 °C in the dark, the first symptoms appear after 4 days. Symptomatic affected tissues can be re-isolated (Garibaldi et al., 2011).

When cultivated on potato dextrose agar at a temperature of 24 ± 1 °C and a 16-hour light regime, the colonies of the fungus first have a whitish, then light brown color, form dark pycnidia 0.5 mm in diameter, which secrete numerous conidia belonging to two types: A and B (Garibaldi et al., 2011).

The phytopathogen spreads over long distances during the international seed trade and has already been reported in Italy (Garibaldi et al., 2011), Myanmar (Zaw et al., 2020), Canada (Udayanga et al., 2011), USA (Beraha, O'Brien, 1979), Croatia (Santos et al., 2011), Japan (Ohsawa, Kobayashi, 1989), Spain, Indonesia, Brazil, Puerto Rico, India, Ecuador, Costa Rica (<https://www.gbif.org/ru/species/5253168>, 2022) and Germany (Ola et al., 2014). Once in the field, the fungus is spread by plant debris, wind and liquid moisture. Black rot pathogen banned from import into Western Australia (<https://www.agric.wa.gov.au/organisms/177174>, 2022). In other states of Australia and in all countries is not regulated (<https://gd.eppo.int>, 2022).

The diagnosis of *Diaporthe cucurbitae* is carried out by cultural and morphological analysis and optical microscopy. The study of the growth parameters of the fungus on nutrient media, the morphological features of the colonies, the characteristics of pycnidia and conidia allow identification to the genus, but confirmation of the species requires the use of molecular genetic methods.

Methods of controlling this fungus species have been studied little. Common methods for phomopsis leaf and stem blight control are crop rotation, plowing up crop residues, and growing resistant varieties. One of the strategies may be the introduction of biological products containing an antagonist of phomopsis blight pathogens – *Bacillus subtilis* (Didenko et al., 2014).

Pest risk analysis showed that *Diaporthe cucurbitae* is able to be introduced into the Russian Federation and adapted in most of the southern territory of the country, as well as in protected ground. At the same time, the numerical value of potential economic damage, according to the calculated data, is below the conditional threshold value (1.25) of the indicator and amounts to 0.94. In this way, *Diaporthe cucurbitae* does not meet the criteria for a quarantine pest for the Russian Federation.

The second target object of the study was the causative agent of Cucurbitaceae gummy stem blight *Stagonosporopsis citrulli* M.T. Brewer & J.E. Stewart (Stewart et al., 2015). This species belongs to the family Didymellaceae of the class Dothideomycetes of ascomycete fungi. There are no data of *Stagonosporopsis citrulli* being on the lists of regulated pests (<https://gd.eppo.int>, 2022).

The fungus is distributed in the USA, Georgia, Taiwan (Huang and Lai, 2019), India (Garampalli et al., 2016), Brazil, China, Israel, the Netherlands, Greece,

Гриб распространен в США, Грузии, на Тайване (Huang, Lai, 2019), в Индии (Garampalli et al., 2016), Бразилии, Китае, Израиле, Нидерландах, Греции и Швеции (Stewart et al., 2015). Возможность распространения инфекции семенами показана на примере арбуза (Hopkins et al., 1996; Lee et al., 1984) и мускатной дыни (Gusmini et al., 2003). В полевых условиях патоген распространяется с зараженными растительными остатками и инфицированными растениями (Keinath, 2008), капельно-жидкой влагой (Everts, Zhou, 2011).

Stagonosporopsis citrulli может инфицировать такие виды тыквенных культур, как арбуз, дыня, кабачок и тыква (Keinath, DuBose, 2017; www.cabi.org/isc, 2022).

Симптомы вязкой гнили стеблей могут различаться в зависимости от вида культуры семейства Тыквенные. Наиболее распространены симптомы на листьях, представляющие собой круглые, водянистые поражения, иногда окруженные желтым ореолом. Симптомы проявляются также в виде некротического ожога вокруг межжилковой области. Чаще поражаются механически поврежденные, ослабленные растения и их старые листья, так как возбудитель по характеру питания относится к группе факультативных некротрофов; гриб при этом может выживать на зараженной растительной ткани до 24 месяцев (Keinath, 2008). *Stagonosporopsis citrulli* продуцирует фермент полигалактуроназу, с помощью которого осуществляет расщепление растительных полисахаридов, делая их пригодными для своего питания. Симптомы на стеблях проявляются в виде водянистых поражений, которые со временем становятся некрозами. Классический симптом – красные или черные липкие капли экссудата, обнаруживаемые вдоль стебля (Paret et al., 2011).

На зараженных плодах в процессе хранения появляется характерная вязкая гниль. На поверхности плодов могут присутствовать пикники, образующие кольцевой узор из черных пятнышек.

Для заражения грибом необходимо наличие свободной влаги в течение как минимум одного часа, а высокая относительная влажность является условием для расширения очага поражения. При оптимальной температуре от 16 до 25 °C симптомы можно наблюдать уже через неделю после прорастания спор на чувствительной ткани (Paret et al., 2011).

Диагностику гриба проводят в основном путем культурально-морфологического анализа. Морфологические характеристики, такие как форма и цвет изолята, выращенного на питательной среде, доступны невооруженному глазу. С помощью оптической микроскопии анализируют характеристики гиф, пикnid, конидий и хламидоспор. В связи с наличием у *Stagonosporopsis citrulli* близкородственных видов, для более точной идентификации используют молекулярно-генетические методы.

Селекционеры определили несколько факторов устойчивости к *Stagonosporopsis* spp., присутствующих в некоторых сортах тыквенных культур. Тем не менее коммерчески доступные устойчивые к фитопатогену сорта в настоящее время отсутствуют. Борьба с вязкой гнилью представляет собой комплекс различных мер, наиболее эффективной из которых сегодня является севооборот. Обнаружено, что промывка семян пероксикусной и соляной кислотами значительно снижает степень

и Sweden (Stewart et al., 2015). The possibility of spreading the infection by seeds has been shown in watermelon (Hopkins et al., 1996; Lee et al., 1984) and nutmeg (Gusmini et al., 2003). In the field, the pathogen spreads with infected plant debris and infected plants (Keinath, 2008), droplet liquid moisture (Everts, Zhou, 2011).

Stagonosporopsis citrulli can infect Cucurbitaceae such as watermelon, melon, squash and pumpkin (Keinath, DuBose, 2017; www.cabi.org/isc, 2022).

Symptoms of gummy stem blight can vary depending on the crop type in the Cucurbitaceae family. The most common symptoms are on the leaves, which are round, watery lesions, sometimes surrounded by a yellow halo. Symptoms also appear as a necrotic burn around the interveinal region. More often, mechanically damaged, weakened plants and their old leaves are affected, since the pathogen belongs to the group of facultative necrotrophs by the nature of nutrition; the fungus can survive on infected plant tissue for up to 24 months (Keinath, 2008). *Stagonosporopsis citrulli* produces the enzyme polygalacturonase, with the help of which it breaks down plant polysaccharides, making them suitable for its nutrition. Stem symptoms appear as watery lesions that become necrosis over time. The classic symptom is red or black sticky drops of exudate found along the stem (Paret et al., 2011).

On infected fruits during storage, a characteristic gummy rot appears. Pycnidia may be present on the surface of the fruit, forming an annular pattern of black spots.

Infection with the fungus requires free moisture for at least one hour, and high relative humidity is a condition for the expansion of the lesion. At an optimum temperature of 16 to 25 °C, symptoms can be observed as early as a week after spores germinate on sensitive tissue (Paret et al., 2011).

The diagnosis of the fungus is carried out mainly by cultural and morphological analysis. Morphological characteristics such as the shape and color of the cultured isolate are visible to the naked eye. Using optical microscopy, the characteristics of hyphae, pycnidia, conidia and chlamydospores are analyzed. As *Stagonosporopsis citrulli* has closely related species, for more accurate identification, molecular genetic methods are used.

Breeders have identified several resistance factors to *Stagonosporopsis* spp., present in some Cucurbitaceae varieties. However, there are currently no commercially available cultivars resistant to the phytopathogen. The fight against gummy blight is a complex of various measures, the most effective of which today is crop rotation. It was found that washing the seeds with peroxycetic and hydrochloric acids significantly reduces the degree of infection (Hopkins et al., 1996). Reducing rainfall with mulch has been shown to significantly reduce infection transmission during rain and irrigation (Everts and Zhou, 2011). Good results in the control of mycosis can be achieved by using correctly selected combinations of fungicides and biological products on vegetative plants.

проявления инфекции (Hopkins et al., 1996). Показано, что уменьшение количества дождевых брызг с помощью мульчи значительно снижает передачу инфекции во время дождя и орошения (Everts, Zhou, 2011). Хороших результатов в борьбе с микозом можно добиться применением на вегетирующих растениях правильно подобранных комбинаций фунгицидов и биопрепаратов.

Анализ фитосанитарного риска показал, что *Stagonosporopsis citrulli* способен проникнуть в Российскую Федерацию и акклиматизироваться, при этом ущерб, который может нанести фитопатоген, оценен как невысокий. Показатель потенциального ущерба от *Stagonosporopsis citrulli* составляет 1,05, и это значение ниже условного порогового значения (1,25) показателя. Таким образом, *Stagonosporopsis citrulli* не соответствует критериям карантинного для Российской Федерации организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования, посвященного разработке рекомендаций по контролю передающихся семенами тыквенных культур фитопатогенов *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli*, изучена номенклатура, таксономия, распространение и биологические особенности передающихся семенами фитопатогенов, отсутствующих на территории РФ. Проанализирована информация о существующих диагностических методах, вредоносности и методах контроля *Diaporthe cucurbitae* и *Stagonosporopsis citrulli*. Использование изученной информации для проведения АФР позволило оценить потенциальный ущерб от интродукции и акклиматизации указанных видов фитопатогенных грибов. Числовое значение показателя потенциального ущерба от *Diaporthe cucurbitae* составляет 0,94, а от *Stagonosporopsis citrulli* – 1,05. Оба значения ниже условного порогового показателя (1,25). Таким образом, изучаемые виды не могут быть рекомендованы для регулирования в качестве карантинных организмов на территории Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Диденко А., Андрюсова В., Мирончук В., 2014. Биопрепараты в защите подсолнечника от фомопсиса. – Защита и карантин растений, № 4: 47–48.
2. Словарева О., Бондаренко Г., 2021. Анализ фитопатогенов, связанных с семенами тыквенных культур. – Фитосанитария. Карантин растений, № 4: 24–36.
3. Beraha L., O'Brien, M. *Diaporthe melonis* sp. nov., a new soft rot of market cantaloupes. – Journal of Phytopathology, 1979; 94 (3): 199–207.
4. Everts K., Zhou X., 2011. Effects of host resistance and inoculum density on the suppression of Fusarium wilt of watermelon induced by hairy vetch. – Plant disease, 91 (1): 92–96.
5. Ferreira M., de Lourdes Almeida Vieira M., Zani C., de Almeida Alves T. et al., 2015. Molecular phylogeny, diversity, symbiosis and discover of bioactive compounds of endophytic fungi associated with the medicinal Amazonian plant *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). – Biochemical Systematics and Ecology, 2015; Vol. 59: 36–44.
6. Garampalli R., Gopalakrishna M., Li H. et al., 2016. Two *Stagonosporopsis* species identified as causal agents of gummy stem blight epidemics of gherkin cucumber (*Cucumis sativus*) in Karnataka, India. European Journal of Plant Pathology, 2016; Vol. 145: 507–512.

Pest risk analysis showed that *Stagonosporopsis citrulli* is able to be introduced into the Russian Federation and adapted, while the damage that the phytopathogen can cause is assessed as low. The indicator of potential damage from *Stagonosporopsis citrulli* is 1.05, and this value is below the conditional threshold (1.25) of the indicator. Thus, *Stagonosporopsis citrulli* does not meet the criteria for a quarantine pest for the Russian Federation.

CONCLUSION

As a result of the study devoted to the development of recommendations for the control of phytopathogens transmitted by Cucurbitaceae seeds of *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli*, the nomenclature, taxonomy, distribution and biological features of seed-transmitted phytopathogens that are absent on the territory of the Russian Federation have been studied. Analyzed information about existing diagnostic methods, harmfulness and control methods of *Diaporthe cucurbitae* and *Stagonosporopsis citrulli*. The use of the studied information for conducting PRA made it possible to assess the potential damage from the introduction and adaptation of the indicated species of phytopathogenic fungi. The numerical value of the indicator of potential damage from *Diaporthe cucurbitae* is 0.94, and from *Stagonosporopsis citrulli* – 1.05. Both values are below the conditional threshold (1.25). Thus, the studied species cannot be recommended for regulation as quarantine pests on the territory of the Russian Federation.

REFERENCES

1. Didenko A., Androsova V., Mironchuk V. Biological products in the protection of sunflower from phomopsis [Biopreparaty v zashchite podsolnechnika ot fomopsisa]. *Plant Protection and Quarantine*, 2014; 4: 47–48 (in Russian).
2. Slovareva O., Bondarenko G. Analysis of phytopathogens associated with Cucurbitaceae seeds. *Plant Health and Quarantine*, 2021; 4: 24–36.
3. Beraha L., O'Brien, M. *Diaporthe melonis* sp. nov., a new soft rot of market cantaloupes. *Journal of Phytopathology*, 1979; 94 (3): 199–207.
4. Everts K., Zhou X. Effects of host resistance and inoculum density on the suppression of Fusarium wilt of watermelon induced by hairy vetch. *Plant disease*, 2011; 91 (1): 92–96.
5. Ferreira M., de Lourdes Almeida Vieira M., Zani C., de Almeida Alves T. et al. Molecular phylogeny, diversity, symbiosis and discover of bioactive compounds of endophytic fungi associated with the medicinal Amazonian plant *Carapa guianensis* Aublet (Meliaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 2015; Vol. 59: 36–44.
6. Garampalli R., Gopalakrishna M., Li H. et al. Two *Stagonosporopsis* species identified as causal agents of gummy stem blight epidemics of gherkin cucumber (*Cucumis sativus*) in Karnataka, India. *European Journal of Plant Pathology*, 2016; Vol. 145: 507–512.
7. Garibaldi A., Bertetti D., Poli A., Gullino M. First report of black rot caused by *Phomopsis cucurbitae* on

- cucumber (*Cucumis sativus*) in Karnataka, India. – European Journal of Plant Pathology, Vol. 145: 507–512.
7. Garibaldi A., Bertetti D., Poli A., Gullino M., 2011. First report of black rot caused by *Phomopsis curbitae* on cantaloupe (*Cucumis melo*) in the Piedmont region of Northern Italy. – Plant Disease, 95 (10): 1317.
 8. Gusmini G., Wehner T., Holmes G., 2002. Disease assessment scales for seedling screening and detached leaf assay for gummy stem blight in watermelon. – Cucurbit Genetics Cooperative Report, Vol. 25: 36–40.
 9. Hopkins M., Reddell P., Hewett R., Graham A., 1996. Comparison of root and mycorrhizal characteristics in primary and secondary rainforest on a metamorphic soil in North Queensland, Australia. – Journal of Tropical Ecology, 12 (6): 871–885.
 10. Huang C., Lai Y., 2019. First report of *Stagonosporopsis citrulli* causing gummy stem blight of watermelon in Taiwan. – Journal of Plant Pathology, Vol. 101: 417.
 11. Keinath A., DuBose V., 2017. Disinfectant treatments that reduce transmission of *Stagonosporopsis citrulli* during cucurbit grafting. – Plant Disease, 101 (11): 1895–1902.
 12. Keinath A., 2008. Survival of *Didymella bryoniae* in infested muskmelon crowns in South Carolina. – Plant Disease, Vol. 92: 1223–1228.
 13. Lee D., Mathur S., Neergaard P., 1984. Detection and location of seed-borne inoculum of *Didymella bryoniae* and its transmission in seedlings of cucumber and pumpkin. – Journal of Phytopathology, 109 (4): 301–308.
 14. Ohsawa T., Kobayashi T., 1989. Concave rot of melon fruit caused by two *Phomopsis* fungi. – Annals of the Phytopathological Society of Japan, Vol. 55: 410–419.
 15. Ola A., Debbab A., Kurtán T., Brötz-Oesterhelt H. et al., 2014. Dihydroanthracenone metabolites from the endophytic fungus *Diaporthe melonis* isolated from *Annona squamosa*. – Tetrahedron Letters, Vol. 55: 3147–3150.
 16. Paret M., Dufault N., Olson S. Management of gummy stem blight (black rot) on cucurbits in Florida. – University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences, 2011, 280 p.
 17. Santos J., Vrandečić K., Ćosić J., Duvnjak T., Phillips A., 2011. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. – Persoonia, Vol. 27: 9–19.
 18. Stewart J., Turner A., Brewer M., 2015. Evolutionary history and variation in host range of three *Stagonosporopsis* species causing gummy stem blight of cucurbits. – Fungal Biol., 119 (5): 370–382.
 19. Udayanga D., Liu X., McKenzie E., Chukeatirote E., Bahkali A., Hyde K., 2011. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. – Fungal Diversity, Vol. 50: 189–225.
 20. Zaw M., Aye S., Matsumoto M., 2020. *Colletotrichum* and *Diaporthe* species associated with soybean stem diseases in Myanmar. – Journal of General Plant Pathology, 86 (2): 114–123.
 21. Правительство Российской Федерации. Постановление от 10.08.2016 № 770 «Об утверждении Положения об осуществлении анализа фитосанитарного риска» [Электронный ресурс]. – URL: <http://government.ru/docs/all/107858/> (дата обращения: 21.02.2022).
 22. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору. Соглашение по СФС-мерам с комментариями о его применении в спорах между членами ВТО [Электронный ресурс]. – URL: cantaloupe (*Cucumis melo*) in the Piedmont region of Northern Italy. – Plant Disease, 2011; 95 (10): 1317.
 8. Gusmini G., Wehner T., Holmes G. Disease assessment scales for seedling screening and detached leaf assay for gummy stem blight in watermelon. – Cucurbit Genetics Cooperative Report, 2002; Vol. 25: 36–40.
 9. Hopkins M., Reddell P., Hewett R., Graham A. Comparison of root and mycorrhizal characteristics in primary and secondary rainforest on a metamorphic soil in North Queensland, Australia. – Journal of Tropical Ecology, 1996; 12 (6): 871–885.
 10. Huang C., Lai Y. First report of *Stagonosporopsis citrulli* causing gummy stem blight of watermelon in Taiwan. – Journal of Plant Pathology, 2019; Vol. 101: 417.
 11. Keinath A., DuBose V. Disinfectant treatments that reduce transmission of *Stagonosporopsis citrulli* during cucurbit grafting. – Plant Disease, 2017; 101 (11): 1895–1902.
 12. Keinath A. Survival of *Didymella bryoniae* in infested muskmelon crowns in South Carolina. – Plant Disease, 2008; Vol. 92: 1223–1228.
 13. Lee D., Mathur S., Neergaard P. Detection and location of seed-borne inoculum of *Didymella bryoniae* and its transmission in seedlings of cucumber and pumpkin. – Journal of Phytopathology, 1984; 109 (4): 301–308.
 14. Ohsawa T., Kobayashi T. Concave rot of melon fruit caused by two *Phomopsis* fungi. – Annals of the Phytopathological Society of Japan, 1989; Vol. 55: 410–419.
 15. Ola A., Debbab A., Kurtán T., Brötz-Oesterhelt H. et al. Dihydroanthracenone metabolites from the endophytic fungus *Diaporthe melonis* isolated from *Annona squamosa*. – Tetrahedron Letters, 2014; Vol. 55: 3147–3150.
 16. Paret M., Dufault N., Olson S. Management of gummy stem blight (black rot) on cucurbits in Florida. – University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences, 2011, 280 p.
 17. Santos J., Vrandečić K., Ćosić J., Duvnjak T., Phillips A. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia. – Persoonia, 2011; Vol. 27: 9–19.
 18. Stewart J., Turner A., Brewer M. Evolutionary history and variation in host range of three *Stagonosporopsis* species causing gummy stem blight of cucurbits. – Fungal Biol., 2015; 119 (5): 370–382.
 19. Udayanga D., Liu X., McKenzie E., Chukeatirote E., Bahkali A., Hyde K. The genus *Phomopsis*: biology, applications, species concepts and names of common phytopathogens. – Fungal Diversity, 2011; Vol. 50: 189–225.
 20. Zaw M., Aye S., Matsumoto M. *Colletotrichum* and *Diaporthe* species associated with soybean stem diseases in Myanmar. – Journal of General Plant Pathology, 2020; 86 (2): 114–123.
 21. Government of the Russian Federation. Decree of August 10, 2016 No. 770 “On approval of the Regulations on the implementation of pest risk analysis” [Electronic resource]. URL: <http://government.ru/docs/all/107858/> (last accessed: 21.02.2022).
 22. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance. Agreement on SPS measures with comments on its application in disputes between WTO members [Electronic resource]. URL: <http://portal>.

<http://portal.fsvps.ru/importExport/wto/trial/agreement.htm> (дата обращения: 07.02.2022).

23. CABI. Invasive Species Compendium [Электронный ресурс]. – URL: www.cabi.org/isc (дата обращения: 08.01.2022).

24. Department of Primary Industries and Regional Development of Western Australia. *Diaporthe cucurbitae* (McKeen) Udayanga & Castl. (2014) [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.agric.wa.gov.au/organisms/177174> (дата обращения 12.01.2022).

25. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) [Электронный ресурс]. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения 10.01.2022).

26. FAOSTAT. Statistics Division Food and Agriculture Organization of the United Nations [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.fao.org/faostat> (дата обращения: 10.12.2021).

27. Global Biodiversity Information Facility (GBIF) [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.gbif.org/ru/species/5253168> (дата обращения: 10.01.2022).

28. Species Fungorum [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.speciesfungorum.org> (дата обращения: 10.09.2021).

fsvps.ru/importExport/wto/trial/agreement.htm (last accessed: 07.02.2022).

23. CABI. Invasive Species Compendium [Electronic resource]. URL: www.cabi.org/isc (last accessed: 08.01.2022).

24. Department of Primary Industries and Regional Development of Western Australia. *Diaporthe cucurbitae* (McKeen) Udayanga & Castl. (2014) [Electronic resource]. URL: <https://www.agric.wa.gov.au/organisms/177174> (last accessed 12.01.2022).

25. European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed 10.01.2022).

26. FAOSTAT. Statistics Division Food and Agriculture Organization of the United Nations [Electronic resource]. URL: <http://www.fao.org/faostat> (last accessed: 10.12.2021).

27. Global Biodiversity Information Facility (GBIF) [Electronic resource]. URL: <https://www.gbif.org/ru/species/5253168> (last accessed: 10.01.2022).

28. Species Fungorum [Electronic resource]. URL: <http://www.speciesfungorum.org> (last accessed: 10.09.2021).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Словарева Ольга Юрьевна, младший научный сотрудник отдела организации межлабораторных сличительных испытаний ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-6022-5955, e-mail: slovareva.olga@gmail.com.

Бондаренко Галина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник – начальник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; старший преподаватель Аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «РУДН», г. Москва, Россия; ORCID 0000-0002-3826-1009, e-mail: reseachergm@mail.ru.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga Slovareva, Junior Researcher, Interlaboratory Comparative Tests Organization Department, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-6022-5955, e-mail: slovareva.olga@gmail.com.

Galina Bondarenko, PhD in Biology, Senior Researcher – Head of the Testing Laboratory Center, FGBU “VNIIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; Senior Lecturer of the Agrarian and Technological Institute of Peoples’ Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia; ORCID 0000-0002-3826-1009, e-mail: reseachergm@mail.ru.