



Охридский минер
в России

32

Патогенные грибы *Diaporthe cucurbitae*
и *Stagonosporopsis citrulli*

40

Тестирование диспенсеров для отлова
западного цветочного трипса

56

ФИТОСАНИТАРИЯ. КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

PLANT HEALTH AND QUARANTINE

Свидетельство
о регистрации СМИ ПИ
№ ФС 77-76606
ISSN: 2782-327X

Русско-английский научный журнал

Март № 1 (9) 2022

СТАТЬЯ НОМЕРА:

Испытания
российских тест-систем
для ПЦР

2

Определительный ключ
для дифференциации
личинок Tephritidae

21

Усачи рода *Monochamus*
в Республике Карелии

48



Редакционная коллегия

Editorial board

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Е.И. НАЗИН, директор ФГБУ «ВНИИР»

ШЕФ-РЕДАКТОР:

В.В. ОЛЕШКЕВИЧ, кандидат филологических наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

Ю.А. ШВАБАУСКЕНЕ – заместитель Руководителя Россельхознадзора
Н.Н. СОЛОВЬЕВА – начальник Управления фитосанитарного надзора и семенного контроля Россельхознадзора, кандидат биологических наук
А.Д. ОРЛИНСКИЙ – научный советник ЕОКЗР, доктор биологических наук

А.С. ШАМИЛОВ – эксперт ФАО по сельскому хозяйству, заместитель начальника группы по разработке стандартов Секретариата МКЗР, кандидат биологических наук

А.В. КОЧЕТОВ – директор ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», член-корреспондент РАН, профессор РАН, доктор биологических наук

М.Т. УПАДЫШЕВ – заведующий отделом биотехнологии и защиты растений ФГБНУ «ВСТИСП», член-корреспондент РАН, профессор РАН, доктор сельскохозяйственных наук

М.В. ПРИДАННИКОВ – заместитель директора Центра паразитологии при ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова, кандидат биологических наук

Н.В. АЛЕЙНИКОВА – заместитель директора по научно-организационной работе ФГБНУ «Магарач» РАН, доктор сельскохозяйственных наук

А.В. ХЮТТИ – заведующий сектором «Грибных, вирусных, микоплазменных и нематодных болезней картофеля и овощных культур» ФГБНУ «ВНИИЗР», кандидат биологических наук

И.Т. БАЛАШОВА – главный научный сотрудник лаборатории новых технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», доктор биологических наук

Ф.С. ДЖАЛИЛОВ – заведующий лабораторией защиты растений МСХА им. К.А. Тимирязева, профессор, доктор биологических наук

А.И. УСКОВ – заведующий отделом биотехнологии и иммунодиагностики ФГБНУ ВНИИХ им. А.Г. Лорха, доктор сельскохозяйственных наук

М.М. АБАСОВ – начальник Центра развития и внедрения инновационных методов защиты растений ФГБУ «ВНИИР», доктор биологических наук

Н.А. ШЕРОКОЛАВА – главный эксперт ФГБУ «ВНИИР»

К.П. КОРНЕВ – заместитель директора ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

О.Б. ДОБРОВОЛЬСКАЯ – и. о. заместителя директора ФГБУ «ВНИИР», доктор биологических наук

Ю.А. ШНЕЙДЕР – начальник научно-методического и экспериментального центра ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

С.Г. ЗИНОВЬЕВА – специалист по связям с общественностью редакционно-издательского отдела ФГБУ «ВНИИР»

РЕДАКЦИЯ

В.В. ЧЕРЕПАНОВА – редактор-корректор

Г.Н. БОНДАРЕНКО – начальник ИЛЦ ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

Е.М. ВОЛКОВА – заведующая лабораторией сорных растений ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

О.Г. ВОЛКОВ – начальник отдела биометода ФГБУ «ВНИИР»

Е.В. КАРИМОВА – начальник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

О.А. КУЛИНИЧ – начальник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИР», доктор биологических наук

М.Б. КОПИНА – начальник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИР», кандидат сельскохозяйственных наук

С.А. КУРБАТОВ – начальник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИР», кандидат биологических наук

С.В. СУДАРИКОВА – старший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИР»

В.С. КУЧЕРЯВЫХ – переводчик, кандидат филологических наук

CHIEF EDITOR:

E.I. NAZIN, Director of FGBU “VNIIR”

MANAGING EDITOR:

V.V. OLESHKEVICH, PhD in Philology

EDITORIAL BOARD

YU.A. SHVABAUSKENE – Deputy Head of Rosselkhoznadzor

N.N. SOLOVYOVA – Head of the Directorate for Phytosanitary Surveillance and Seed Control of Rosselkhoznadzor, PhD in Biology

A.D. ORLINSKI – EPPO Scientific Advisor, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

A.S. SHAMILOV – FAO Agricultural Officer, Deputy Head of the Standards Setting Unit of IPPC Secretariat, PhD in Biology

A.V. KOCHETOV – Director of FGBNU “Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS”, Corresponding Member of the RAS, Professor of the RAS, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

M.T. UPADYSHEV – Head of the Biotechnology and Plant Protection Department of FGBNU “All-Russian Horticultural Institute for Breeding, Agrotechnology and Nursery”, Corresponding Member of the RAS, Professor of the RAS, Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

M.V. PRIDANNIKOV – Deputy Director of the Center of Parasitology of A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, PhD in Biology

N.V. ALEINIKOVA – Deputy Director for Scientific and Organizational Work of the FGBNU “Magarach” of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

A.V. KHIUTTI – Head of the Group for Potato and Vegetable Crop Fungal, Viral, Mycoplasma and Nematode Diseases of FGBNU “VNIIZR”, PhD in Biology

I.T. BALASHOVA – Chief Researcher of the Laboratory of New Technologies of FGBNU “Federal Scientific Center of Vegetable Growing”, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

F.S. DZHALILOV – Head of the Plant Protection Laboratory of the RSAU – MAA n. a. K.A. Timiryazev, Professor, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

A.I. USKOV – Head of the Biotechnology and Immunodiagnostics Department of FGBNU “Lorch Potato Research Institute”, Doctor of Advanced Studies in Agricultural Sciences

M.M. ABASOV – Head of the Center for Development and Implementation of Innovative Methods of Plant Protection of FGBU “VNIIR”, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

N.A. SHEROKOLAVA – Chief Expert of FGBU “VNIIR”

K.P. KORNEV – Deputy Director of FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

O.B. DOBROVOLSKAYA – Acting Deputy Director, FGBU “VNIIR”, Doctor of Biology

YU.A. SHNEYDER – Head of Research and Methodology and Experimental Center, FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

S.G. ZINOVYEVA – PR specialist, Editorial and Publishing Department, FGBU “VNIIR”

EDITORSHIP

V.V. CHEREPANOVA – Copy Editor

G.N. BONDARENKO – Head of the Testing Laboratory Center of FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

E.M. VOLKOVA – Head of the Laboratory of Weed Plants of FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

O.G. VOLKOV – Head of the Biomethod Department of FGBU “VNIIR”

E.V. KARIMOVA – Head of the Scientific and Methodological Department of Virology and Bacteriology of the FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

O.A. KULINICH – Head of the Forest Quarantine Department of FGBU “VNIIR”, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

M.B. KOPINA – Head of the Research and Methodology Department for Mycology and Helminthology, PhD in Agriculture

S.A. KURBATOV – Head of the Entomological Research and Methodology Department of FGBU “VNIIR”, PhD in Biology

S.V. SUDARIKOVA – Senior Researcher of the Helminthology Laboratory of the Testing Laboratory Center of FGBU “VNIIR”

V.S. KUCHERYAVYKH – Translator, PhD in Philology

Содержание | Content

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Валидация ПЦР-тестов с наборами российского производства для выявления *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительных экстрактах

Н.В. ДРЕНОВА, И.М. ИГНАТЬЕВА,
М.О. КОНДРАТЬЕВ, Е.Ю. ШНЕЙДЕР

Идентификация некоторых видов личинок мух-пестрокрылок (Insecta: Diptera: Tephritidae), встречающихся в плодах тыквенных растений

М.Ю. АРАПОВА, И.О. КАМАЕВ

Охридский минер *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera: Gracillariidae): распространение на территории России и возможные меры контроля

Д.И. РЯСКИН, О.А. КУЛИНИЧ,
Ю.И. ГНИНЕНКО, Е.Н. АРБУЗОВА

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

О.Ю. СЛОВАРЕВА, Г.Н. БОНДАРЕНКО

SCIENTIFIC RESEARCH

Validation of PCR tests with Russian kits for the detection of *Ralstonia solanacearum sensu lato* in plant extracts

N.V. DRENOVA, I.M. IGNATIEVA,
M.O. KONDRATIEV, YE.YU. SHNEYDER

Identification of some fruit fly larvae species (Insecta: Diptera: Tephritidae) on Cucurbitaceae fruits

M.YU. ARAPOVA, I.O. KAMAYEV

Horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera: Gracillariidae): distribution in Russia and possible control measures

D.I. RYASKIN, O.A. KULINICH,
YU.I. GNINENKO, E.N. ARBUZOVA

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

O.YU. SLOVAREVA, G.N. BONDARENKO

ПОЛЕВЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Феромониторинг жуков-усачей рода *Monochamus* в различных особо охраняемых природных территориях Республики Карелии

С.Н. ЛЯБЗИНА, А.А. ЧАЛКИН, Е.В. СИНИЦЫНА,
О.В. СИНКЕВИЧ, О.А. ДОНСКОЙ

Разработка и испытание диспенсеров с агрегационным феромоном и аттрактантом для увеличения отлова западного цветочного трипса клеевыми ловушками

Н.Г. ТОДОРОВ, А.Ю. ЛОБУР, Н.И. КУЛАКОВА,
Н.И. ЕРШОВА, М.В. УШКОВА

FIELD TESTS

Pheromonitoring of longhorn beetles of the genus *Monochamus* in various specially protected natural territories of the Republic of Karelia

S.N. LYABZINA, A.A. CHALKIN, E.V. SINITSYNA,
O.V. SINKEVICH, O.A. DONSKOY

Development and testing of dispensers with aggregating pheromone and attractant to increase the capture of Western flower thrips with sticky traps

N.G. TODOROV, A.YU. LOBUR, N.I. KULAKOVA,
N.I. ERSHOVA, M.V. USHKOVA

Журнал «Фитосанитария. Карантин растений» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), свидетельство о регистрации ПИ № ФС 77-76606 от 15 августа 2019 года
Фото на обложке: Процесс выделения ДНК изучаемых образцов (фото А.Д. Плоского)
Дизайн и верстка: Мария Бондарь
Учредитель: ФГБУ «ВНИИКР», 140150, Московская область, г. Раменское, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32

Издатель: ООО «Вейнард»
Телефон редакции: 8 (495) 925-06-34
Электронная почта: veinardltd@gmail.com
Индексы издания для подписки в каталогах:
АО «Агентство «Роспечать» – 81075
ООО «Агентство Книга-Сервис» – 33095
Отпечатано в типографии
ООО «Полиграфический комплекс»
123298, г. Москва, ул. 3-я Хорошевская, дом 18, корпус 1
Тираж 3000 экз.
Подписано в печать: 18.03.2022
Дата выхода в свет: 31.03.2022

The Journal "Plant Health and Quarantine" is registered by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media (Roskomnadzor), Registration Certificate No. FS 77-76606, August 15, 2019
Photo on the cover: Process of DNA isolation of the studied samples (photo by A.D. Plonsky)
Design & Composition: Mariya Bondar
Establisher: FGBU VNIICR, 140150, Moskovskaya oblast, Ramenskoye, r. p. Bykovo, Pogranichnaya ulitsa, 32

Publisher: ООО "Veynard"
Editorial Board Office:
Tel: +7 (495) 925-06-34
E-mail: veinardltd@gmail.com
Subscription indexes:
АО Agentstvo "Rospechat" – 81075
ООО Agentstvo "Kniga-Servis" – 33095
Printing house:
ООО "Poligrafichesky kompleks",
123298, ul. 3-ya Khoroshevskaya, 18, build. 1
Circulation: 3000 copies
Approved for print: 18/03/2022
Issue date: 31/03/2022

Валидация ПЦР-тестов с наборами российского производства для выявления *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительных экстрактах

Н.В. ДРЕНОВА¹, И.М. ИГНАТЬЕВА²,
М.О. КОНДРАТЬЕВ³, Е.Ю. ШНЕЙДЕР⁴

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0003-4020-2910, e-mail: drenova@mail.ru

² ORCID 0000-0003-1047-0105,
e-mail: babiraignirmi@yandex.ru

³ e-mail: affut24@rambler.ru

⁴ e-mail: seunch@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Проведена оценка применимости (валидация) двух тестов на основе полимеразной цепной реакции в реальном времени и теста в формате FLASH с коммерческими наборами для выделения ДНК и для амплификации производства российских компаний ООО «АгроДиагностика» и ООО «Синтол», а также с использованием отечественных амплификаторов для выявления генетического материала комплекса возбудителей карантинного заболевания бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительном экстракте картофеля и роз. Аналитическая чувствительность тестов для большинства штаммов составила 10^2 – 10^3 КОЕ/мл. Повторяемость и воспроизводимость тестов на основе ПЦР в реальном времени зависели от используемого прибора. Значения рабочих критериев до 100% получены на детектирующем амплификаторе «ДТ-лайт» производства компании ООО «ДНК-Технология». На основании результатов испытаний наборы ООО «АгроДиагностика» могут быть рекомендованы для проведения универсальных отборочных тестов при выполнении лабораторных исследований образцов подкарантинной продукции на выявление возбудителей видового комплекса. Тест с набором ООО «Синтол», специфичный к *R. solanacearum* расы 3 биовара 2, может быть использован для подтверждения положительного результата отборочного теста или в качестве отборочного при исследовании образцов из зон распространения *R. solanacearum* расы 3 биовара 2, а также для дифференциальной диагностики этой группы.

Ключевые слова. Картофель, роза, бурая гниль картофеля, диагностика, валидация, карантин.

Validation of PCR tests with Russian kits for the detection of *Ralstonia solanacearum sensu lato* in plant extracts

N.V. DRENOVA¹, I.M. IGNATIEVA²,
M.O. KONDRATIEV³, YE.YU. SHNEYDER⁴

FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIIEKR"), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0003-4020-2910, e-mail: drenova@mail.ru

² ORCID 0000-0003-1047-0105,
e-mail: babiraignirmi@yandex.ru

³ e-mail: affut24@rambler.ru

⁴ e-mail: seunch@mail.ru

ABSTRACT

The validation of two tests based on qPCR and a FLASH test with commercial kits for DNA isolation and amplification produced by Russian companies AgroDiagnostika and Syntol was assessed, as well as using Russian amplifiers for identification of the genetic material of a complex of causative agents of the quarantine disease, brown rot and bacterial wilt *Ralstonia solanacearum sensu lato*, in extract of potatoes and roses. The analytical sensitivity of tests for most strains was 10^2 – 10^3 CFU/ml. The repeatability and reproducibility of RT-PCR tests depended on the instrument used. The values of the working criteria up to 100% were obtained on a qPCR machine DT-light manufactured by DNA-Technology. Based on the test results, AgroDiagnostika kits can be recommended for carrying out universal screening tests during laboratory studies of regulated products samples to identify pathogens of the species complex. The test with the Syntol kit, specific to *R. solanacearum* race 3 biovar 2, can be used to confirm a positive result of the screening test or as a screening test when examining samples from the spread areas of *R. solanacearum* race 3 biovar 2, as well as for differential diagnosis this group.

Key words. Potatoes, rose, brown potato rot diagnostics, validation, quarantine.

ВВЕДЕНИЕ

Возбудитель бурой бактериальной гнили картофеля (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta & Nishiuchi) – карантинный объект для территории Евразийского экономического союза (ЕАЭС). Патоген, поражающий пасленовые культуры и арахис в Азии, на юге США и в Южной Америке, был известен с конца XIX века и в настоящее время распространился практически по всему миру от экваториальных областей до широт Северной Европы и Патагонии (EPPO, 2004; EPPO Global Database, 2021). Бактерии поражают сосудистую систему, вызывая симптомы увядания и гибель широкого круга растений.

Для территории РФ и ЕАЭС в настоящее время наибольший риск представляет поражение картофеля (*Solanum tuberosum* L.) и других пасленовых культур, однако список экономически значимых растений – хозяев патогена продолжает пополняться. Возбудитель был выявлен на свекле (*Beta vulgaris* L.) на Тайване (Lin et al., 2015), на розе (*Rosa* sp.) в Нидерландах (Tjou-Tam-Sin et al., 2017), на тыквенных культурах (Cucurbitaceae) в Японии (Horita et al., 2014), Китае (She et al., 2018) и на Мартинике (Wicker et al., 2007), на голубике (*Vaccinium corymbosum* L.) в США (Norman et al., 2018), на декоративных культурах, в т. ч. культивируемых в открытом грунте (EPPO Global Database, 2021).

Со времени описания микроорганизм был многократно реклассифицирован. В настоящее время на основе характеристик генома род *Ralstonia* отнесен к семейству Burkholderiaceae, включенному в класс Betaproteobacteria, тогда как до недавнего времени на основе морфолого-биохимических свойств группа *Ralstonia solanacearum sensu lato* входила в род *Pseudomonas*, на данный момент отнесенный к классу Gammaproteobacteria (EPPO Global Database, 2021).

Внутри группы штаммов на основе их биохимического и патогенного полиморфизма выделяют 5 биоваров (bv.) и 5 рас, не всегда коррелирующих между собой (Buddenhagen et al., 1962). Работы по классификации штаммов на основе генетического фингерпринтинга, секвенирования последовательностей гена 16S рРНК и межгенного участка 16-23S, последовательностей генов полигалактуроназы и эндоглюканазы позволили выделить 4 фило типа (I – штаммы азиатского происхождения, II – штаммы южноамериканского происхождения, III – штаммы, выявленные в высокогорных районах Африки, IV – штаммы из Индонезии, Японии и Австралии), объединяющие 23 секвевара. Поскольку генетическое сходство некоторых групп штаммов, оцениваемое методом ДНК-ДНК-гибридизации, зачастую было менее 70%, Fegan и Prior (2005) предложили рассматривать *R. solanacearum* как видовой комплекс.

В 2014 г. таксономия видовой группы *R. solanacearum sensu lato* была пересмотрена на основе комбинации геномных и протеомных характеристик (Safni et al., 2014). Видовой комплекс был разделен на 3 вида: *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. emend. Safni et al., *Ralstonia pseudosolanacearum* Safni et al. и *Ralstonia syzygii* (Roberts et al.) Vaneechoutte et al. Новое разделение видов совпадает с предыдущей классификацией фило типов:

INTRODUCTION

The causative agent of potato bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi, Kosako, Yano, Hotta & Nishiuchi) is a quarantine object for the territory of the Eurasian Economic Union (EAEU). The pathogen affecting Solanaceae crops and peanuts in Asia, the southern United States and South America has been known since the late 19th century and has now spread to almost the entire world from equatorial regions to latitudes in Northern Europe and Patagonia (EPPO, 2004; EPPO Global Database, 2021). Bacteria infect the vascular system, causing wilting symptoms and death of a wide range of plants.

For the territory of the Russian Federation and the EAEU, the greatest risk is currently posed by damage to potatoes (*Solanum tuberosum* L.) and other Solanaceae crops, however, the list of economically important host plants of the pathogen continues to grow. The causative agent has been identified on beets (*Beta vulgaris* L.) in Taiwan (Lin et al., 2015), on roses (*Rosa* sp.) in the Netherlands (Tjou-Tam-Sin et al., 2017), on Cucurbitaceae crops in Japan (Horita et al., 2014), China (She et al., 2018) and in Martinique (Wicker et al., 2007), on blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) in the USA (Norman et al., 2018), on ornamental crops, including those cultivated in the open field (EPPO Global Database, 2021).

Since the description, the microorganism has been reclassified many times. Currently based on genome characteristics, the genus *Ralstonia* belongs to the family Burkholderiaceae, included in the class Betaproteobacteria, whereas until recently, on the basis of morphological and biochemical properties, the group *Ralstonia solanacearum sensu lato* was part of the genus *Pseudomonas*, currently referred to the class Gammaproteobacteria (EPPO Global Database, 2021).

Within the group of strains, on the basis of their biochemical and pathogenic polymorphism, 5 biovars (bv.) and 5 races are distinguished, which are not always intercorrelated (Buddenhagen et al., 1962). The work on the classification of strains based on genetic fingerprinting, sequencing of the 16S rRNA gene and 16-23S intergenic region sequences, polygalacturonase and endoglucanase gene sequences made it possible to identify 4 phylotypes (I – strains of Asian origin, II – strains of South American origin, III – strains identified in high-altitude regions of Africa, IV – strains from Indonesia, Japan and Australia), combining 23 sequevars. Since the genetic similarity of some groups of strains, assessed by DNA-DNA hybridization, was often less than 70%, Fegan and Prior (2005) proposed to consider *R. solanacearum* as a species complex.

In 2014, the taxonomy of the species complex *R. solanacearum sensu lato* was revised based on a combination of genomic and proteomic characteristics (Safni et al., 2014). The species complex was divided into 3 species: *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. emend. Safni et al., *Ralstonia pseudosolanacearum* Safni et al. and *Ralstonia syzygii* (Roberts et al.)

R. pseudosolanacearum (филотип I и III), *R. solanacearum* (филотип II) и *R. syzygii* (филотип IV) (Safni et al., 2014; EPPO, 2018; Ерохова, 2020). В соответствии с таксономическими изменениями группы, для корректировки Перечня карантинных объектов РФ, а позже и ЕАЭС, в 2018–2019 гг. был проведен анализ фитосанитарного риска новых видов для территории РФ. На основании литературных источников, а также проведенных авторами вегетационных опытов все 3 вида комплекса были признаны потенциально опасными для территории РФ и предложены к включению в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС (Шнейдер и др., 2021).

С помощью современных методов диагностики возбудитель бурой гнили впервые на территории РФ был выявлен Иркутским филиалом ФГБУ «ВНИИКР» в продовольственном картофеле из КНР в 2008 г.

Перехваты *R. solanacearum* в РФ были зафиксированы из следующих стран: Египет и КНР (с 2011 г. практически ежегодно), Индия (2011, 2015), Бангладеш (2014, 2015), Азербайджан (2017, 2021), Иран (2016, 2017, 2018), Грузия (2021). В 2016 г. в лабораторию Иркутского филиала от частного лица поступил образец бананов с симптомами «кровавой болезни». Исследования подтвердили присутствие возбудителя, относящегося к видовому комплексу *R. solanacearum sensu lato* и вызывающего «кровавую болезнь» в Индонезии и соседних островных государствах (<https://fsvps.gov.ru/fsvps/print/news/16317.html>). Риск проникновения различных видов комплекса на территорию ЕАЭС остается высоким, что требует обеспечения его надежного выявления в партиях подкарантинной продукции и при проведении обследования территории.

В 2018 г., в связи с реклассификацией видового комплекса *Ralstonia solanacearum sensu lato*, был выпущен обновленный Стандарт Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) РМ 7/21 (2) как для определения комплекса в целом, так и для дифференциальной диагностики штаммов, относящихся к вновь выделенным видам (EPPO, 2018). Российскими компаниями были разработаны готовые наборы для молекулярной диагностики возбудителя бурой гнили. Бактериологическая коллекция ФГБУ «ВНИИКР» была пополнена новыми коллекционными штаммами видового комплекса, близких видов, других патогенов картофеля, а также оригинальными изолятами, выделенными из лабораторных образцов. Таким образом, к настоящему времени возникла необходимость пересмотра используемых в аккредитованных лабораториях Россельхознадзора руководств по диагностике видов комплекса *R. solanacearum sensu lato*.

При исследовании образцов подкарантинной продукции на выявление микроорганизмов наиболее применимы тесты на основе полимеразной цепной реакции с флуоресцентной меткой (ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) или флуоресцентная амплификация с детекцией по конечной точке (FLASH)) (Завриев и др., 2007; Ребриков и др., 2009). Эти тесты сочетают потенциально высокие чувствительность, специфичность, скорость и производительность исполнения, а также универсальность оснащения лаборатории и производственных процессов, характерных для молекулярных

Vaneechoutte et al. The new division of species coincides with the previous classification of phylotypes: *R. pseudosolanacearum* (phylotype I and III), *R. solanacearum* (phylotype II) and *R. syzygii* (phylotype IV) (Safni et al., 2014; EPPO, 2018; Yerokhova, 2020). In accordance with the taxonomic changes of the group, in order to adjust the List of quarantine objects of the Russian Federation, and later the EAEU, in 2018–2019, a pest risk analysis of new species for the territory of the Russian Federation was carried out. Based on the literature, as well as the vegetation experiments carried out by the authors, all 3 species of the complex were recognized as potentially dangerous for the territory of the Russian Federation and were proposed for inclusion in the Common List of Quarantine Objects of the EAEU (Shneyder et al., 2021).

Using modern diagnostic methods, the causative agent of brown rot was first detected in the Russian Federation by the Irkutsk branch of FGBU “VNIICR” in food potatoes from the PRC in 2008.

R. solanacearum was reported in Russia from the following countries: Egypt and China (almost every year since 2011), India (2011, 2015), Bangladesh (2014, 2015), Azerbaijan (2017, 2021), Iran (2016, 2017, 2018), Georgia (2021). In 2016, the laboratory of the Irkutsk branch received a sample of bananas with symptoms of “blood disease” from an individual. The studies confirmed the presence of a pathogen belonging to the species complex *R. solanacearum sensu lato* and causing “blood disease” in Indonesia and neighboring island states (<https://fsvps.gov.ru/fsvps/print/news/16317.html>). The risk of introduction of various species of the complex into the territory of the EAEU remains high, which requires ensuring its reliable detection in batches of regulated products and during a survey of the territory.

In 2018, due to the reclassification of the species complex *Ralstonia solanacearum sensu lato*, an updated European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) PM 7/21 (2) Standard was released both for the definition of the complex as a whole and for the differential diagnosis of strains related to newly isolated species (EPPO, 2018). Russian companies developed ready-made kits for molecular diagnostics of the causative agent of brown rot. The bacteriological collection of the FGBU “VNIICR” was replenished with new collection strains of the species complex, related species, other potato pathogens, as well as original isolates isolated from laboratory samples. Thus, by now, it is necessary to revise the guidelines for diagnostics of the species of the complex *R. solanacearum sensu lato* used in the accredited laboratories of the Rosselkhoz nadzor.

When examining samples of regulated products for the detection of microorganisms, tests based on a polymerase chain reaction with a fluorescent label (real-time PCR (RT-PCR) or fluorescent amplification-based specific hybridization (FLASH)) are most applicable (Zavriev et al., 2007; Rebrikov et al., 2009). These tests combine the potentially high sensitivity, specificity, speed and productivity of execution, as well as the versatility of laboratory equipment and

методов с пониженным риском контаминации продуктами амплификации по сравнению с классической ПЦР. Поэтому использование данных тестов для скрининга образцов в карантинных лабораториях остается приоритетным.

В соответствии с требованиями к тестам, используемым лабораториями, аккредитованными в соответствии со Стандартом ISO/IEC 17025 (Стандарт ISO/IEC 17025, 2017) и Стандартом ЕОКЗР РМ 7/98 (4) (ЕППО, 2019) для лабораторий, специализирующихся на диагностике вредных организмов растений, необходимо использовать тесты, которые прошли процедуру оценки применимости (валидации) и признаны надежными и достоверными.

В связи с вышесказанным целью настоящего исследования стала оценка применимости тестов на основе ПЦР с флуоресцентной меткой с коммерческими наборами российских производителей для выявления (скрининга) генетического материала видов комплекса *R. solanacearum sensu lato* в растительных экстрактах для включения их в обновленные методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Испытания проводили на базе научно-методического отдела вирусологии и бактериологии и Испытательного лабораторного центра (ИЛЦ) ФГБУ «ВНИИКР» в соответствии с требованиями Стандарта ЕОКЗР РМ 7/98 (4) (ЕППО, 2019).

Провели оценку применимости двух тестов на основе ПЦР-РВ с использованием следующих коммерческих наборов для амплификации: «*Ralstonia solanacearum*-РВ, раса 3 bv. 2 и раса 1 bv. 1» (ООО «Синтол») и «Бурая бактериальная гниль *Ralstonia solanacearum* Rt» (ООО «АгроДиагностика»), а также ревалидацию теста с набором «Бурая бактериальная гниль *Ralstonia solanacearum* F» в формате FLASH (ООО «АгроДиагностика»). Коммерческие наборы включают внутренний контроль амплификации (ВК), необходимый при работе с растительными экстрактами. Для выделения ДНК использовали коммерческий набор «Проба-ГС» (ООО «АгроДиагностика»).

Амплификацию проводили в соответствии с инструкциями производителей наборов на оборудовании отечественного производства. Для теста в формате FLASH использовали термоциклер «Терцик» (ООО «ДНК-Технология»). Для тестов на основе ПЦР-РВ опыты по определению аналитической чувствительности (АЧ), аналитической специфичности (АС), селективности (С) и повторяемости (П) проводили на детектирующем амплификаторе «ДТ-лайт» (ООО «ДНК-Технология»). Для определения воспроизводимости (В) использовали приборы «ДТ-прайм» (ООО «ДНК-Технология») и «АНК-32» (ООО «Синтол»).

Опыты проводили с искусственно зараженными экстрактами растений-хозяев, полученными из смеси экстрактов, приготовленных согласно диагностическим стандартам (ЕППО, 2004; СТО ВНИИКР 4.009-2013) при проведении исследования образцов в ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР» и признанных чистыми. Экстракты с добавлением глицерина хранили при температуре -20°C . Основные опыты проводили с экстрактами клубней картофеля, селективность (С) определяли с использованием экстрактов роз и зеленых частей картофеля.

production processes, typical for molecular methods with a reduced risk of contamination by amplification products compared to classical PCR. Therefore, the use of these tests for screening of samples in quarantine laboratories remains a priority.

In accordance with the requirements for tests used by laboratories accredited in accordance with ISO/IEC 17025 (ISO/IEC 17025, 2017) and EPPO Standard PM 7/98 (4) (EPPO, 2019) for laboratories specialized in the diagnosis of plant pests, it is necessary to use tests that have passed the procedure for assessing the applicability (validation) and are recognized as reliable.

Therefore, the purpose of this study was to assess the applicability of tests based on fluorescent label PCR with commercial kits of Russian manufacturers for the detection (screening) of the genetic material of the species complex *R. solanacearum sensu lato* in plant extracts for inclusion in the updated guidelines for the detection and identification of the pathogen.

MATERIALS AND METHODS

The tests were carried out on the basis of the Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology and the Testing Laboratory Center (TLC) of FGBU «VNIICR» in accordance with the requirements of EPPO Standard PM 7/98 (4) (EPPO, 2019).

The applicability of two RT-PCR-based tests using the following commercial amplification kits was evaluated: “*Ralstonia solanacearum*-RT, race 3 bv. 2 and race 1 bv. 1” (Syntol) and “Brown bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* Rt” (AgroDiagnostika), as well as test revalidation with the kit “Brown bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* F” in FLASH format (AgroDiagnostika). Commercial kits include an internal amplification control (IC) required when working with plant extracts. For DNA isolation, a commercial kit “Proba-GS” (AgroDiagnostika) was used.

Amplification was carried out in accordance with the instructions of the kit manufacturers using Russian equipment. For the test in FLASH format, a Tertsik thermal cycler (DNA-Technology) was used. For RT-PCR tests, experiments to determine analytical sensitivity (ASen), analytical specificity (AS), selectivity (S), and repeatability (R) were carried out on a qPCR machine DT-light (DNA-Technology). To determine reproducibility (Reprod), we used DT-Prime (DNA-Technology) and ANK-32 (Syntol) devices.

Experiments were carried out with artificially infected extracts of host plants obtained from a mixture of extracts prepared according to diagnostic standards (EPPO, 2004; STO VNIICR 4.009-2013) when examining samples at the TLC of FGBU «VNIICR» and recognized as pure. The extracts with the addition of glycerol were stored at -20°C . The main experiments were carried out with extracts of potato tubers; selectivity (S) was determined using extracts of roses and green parts of potatoes.

To determine ASen and AS, 6 strains from the French Collection of Microorganisms (CFBP) and 2 strains from the National Collection of Phytopathogenic Bacteria (NCPBP, Great Britain) belonging to the

Для определения АЧ и АС были использованы 6 штаммов из Французской коллекции микроорганизмов (CFBP) и 2 штамма из Национальной коллекции фитопатогенных бактерий (NCPBP, Великобритания), принадлежащие комплексу *R. solanacearum* s. l. (табл. 1, 2), в концентрации (10^1) 10^2 – 10^6 КОЕ/мл.

Кроме того, для оценки АС использовали штаммы из вышеуказанных коллекций, а также из Немецкой коллекции микроорганизмов и клеточных культур (DSM), коллекций Агентства безопасности продовольствия Финляндии (EVIRA), ФГБНУ ВНИИФ, ФГБУ «ВНИИКР» (VNIKR) и изоляты, выделенные авторами (DN). Использовали ДНК суспензий чистых культур *R. solanacearum* s. l., других штаммов, выделенных из растений картофеля, а также коллекционных штаммов бактерий сем. Burkholderiaceae, других семейств, а также патогенов, поражающих растения-хозяева. Для определения эндоспецифичности тестов на основе ПЦР-РВ были использованы 14 коллекционных штаммов видового комплекса *R. solanacearum* s. l. (табл. 1). Экзоспецифичность определяли с использованием 15 коллекционных штаммов, поражающих растения-хозяева: *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (VNIKR 0139), *Dickeya chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* (DSM 4610), *D. dadantii* subsp. *dadantii* (DSM 18020), *D. dianthicola* (CFBP 3705), *D. solani* (DSM 28711), *D. zeae* (DSM 18068^T), *Dickeya* sp. (EVIRA DC 10, D-9 (VNIKR 0144), D-33 (VNIKR 0145), *D. fil.* (VNIKR 0146)), *Pectobacterium atrosepticum* (EVIRA ECA 2, DSM 18077^T, Pa393 (VNIKR 0143)), *P. wasabiae* (DSM 18074^T), *P. carotovorum* (DSM 30168^T), 7 штаммов сем. Burkholderiaceae: *Burkholderia cepacia* (CFBP 2227^T), *B. gladioli* pv. *gladioli* (CFBP 2427^{PT}), *B. graminis* (CFBP 6734^T), *B. plantarii* (CFBP 3997^T), *Paraburkholderia caryophylli* (CFBP 1370, CFBP 2429^T, CFBP 3819), а также 9 изолятов из пораженного картофеля: *Arthrobacter castelli* (VNIKR 0073 (ВНИИФ 1870)), VNIKR 0415, VNIKR 0416, DN 417, DN 418, DN 419-1, DN 419-2, DN 582, DN 583.

Дополнительно для определения АС были использованы данные предыдущих исследований. Для теста на основе ПЦР-РВ (ООО «Синтол») было проанализировано 16 нецелевых штаммов: *D. dianthicola* (D3B1, D3B2, D17), *D. dadanthii* (DFILL), *Dickeya* sp. (D33), *C. m.* subsp. *sepedonicus* (Cms 204, CMS1, CMS6889 (NCPBP 2137)), *C. m.* subsp. *michiganensis* (CM 4761 (CMM1), HE 11 (CMM2)), *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Sw4), *P. dispersa* (PD1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (ICMP 9032, ICMP 9067); *Xanthomonas fragariae* (NCPBP 1469), *X. oryzae* pv. *oryzae* (NCPBP 3002) (Корнев, Копина, 2012).

Для определения эндоспецифичности теста в формате FLASH в предыдущих исследованиях (Дренова, Кузнецова, 2012) использовали более 40 изолятов *R. solanacearum* рас 1, 2 и 3, выделенных при проведении исследования образцов клубней картофеля из РФ, Египта, Индии и КНР в лаборатории бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», в Ленинградской и Краснодарской МВЛ, а также коллекционных штаммов. Коллекционные штаммы и основные изоляты приведены в таблице 1. Для определения экзоспецифичности использовали 31 нецелевой штамм: *Bacillus* sp., *C. m.* subsp. *sepedonicus* (Cms 204, CMS6889 (NCPBP 2137)), *C. m.* subsp. *michiganensis* (CM 4761 (CMM1), HE 11 (CMM2), Cmm Yu-1), *Dickeya chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* (DSM 4610), *D. c.* pv. *parthenii*

R. solanacearum s. l. (Tables 1, 2), at a concentration (10^1) 10^2 – 10^6 CFU/ml.

In addition, strains from the above collections, as well as from the German collection of microorganisms and cell cultures (DSM), collections of the Finnish Food Safety Agency (EVIRA), FGBNU «VNIIF», FGBU «VNIKR» and isolates obtained by the authors (DN). We used DNA of suspensions of pure cultures of *R. solanacearum* s. l., other strains isolated from potato plants, as well as collection strains of bacteria of the family Burkholderiaceae, other families, and host pathogens. To determine the endospecificity of RT-PCR-based tests, 14 collection strains of the species complex *R. solanacearum* s. l. were used (Table 1). Exospecificity was determined using 15 collection strains affecting host plants: *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (VNIKR 0139), *Dickeya chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* (DSM 4610), *D. dadantii* subsp. *dadantii* (DSM 18020), *D. dianthicola* (CFBP 3705), *D. solani* (DSM 28711), *D. zeae* (DSM 18068^T), *Dickeya* sp. (EVIRA DC 10, D-9 (VNIKR 0144), D-33 (VNIKR 0145), *D. fil.* (VNIKR 0146)), *Pectobacterium atrosepticum* (EVIRA ECA 2, DSM 18077^T, Pa393 (VNIKR 0143)), *P. wasabiae* (DSM 18074^T), *P. carotovorum* (DSM 30168^T), 7 strains of the family Burkholderiaceae: *Burkholderia cepacia* (CFBP 2227^T), *B. gladioli* pv. *gladioli* (CFBP 2427^{PT}), *B. graminis* (CFBP 6734^T), *B. plantarii* (CFBP 3997^T), *Paraburkholderia caryophylli* (CFBP 1370, CFBP 2429^T, CFBP 3819), as well as 9 isolates from infected potatoes: *Arthrobacter castelli* (VNIKR 0073 (VNIIF 1870)), VNIKR 0415, VNIKR 0416, DN 417, DN 418, DN 419-1, DN 419-2, DN 582, DN 583.

Additionally, data from previous studies were used to determine AS. For the test based on RT-PCR (Synтол), 16 non-target strains were analyzed: *D. dianthicola* (D3B1, D3B2, D17), *D. dadanthii* (DFILL), *Dickeya* sp. (D33), *C. m.* subsp. *sepedonicus* (Cms 204, MCMS1, CMS6889 (NCPBP 2137)), *C. m.* subsp. *michiganensis* (CM 4761 (CMM1), HE 11 (CMM2)), *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Sw4), *P. dispersa* (PD1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (ICMP 9032, ICMP 9067); *Xanthomonas fragariae* (NCPBP 1469), *X. oryzae* pv. *oryzae* (NCPBP 3002) (Kornev, Kopina, 2012).

To determine the endospecificity of the test in the FLASH format in previous studies (Drenova, Kuznetsova, 2012), more than 40 isolates of *R. solanacearum* races 1, 2, and 3 were used, isolated during the study of potato tuber samples from the Russian Federation, Egypt, India and China in the bacteriology laboratory of FGBU «VNIKR», in the Leningrad and Krasnodar Interregional Veterinary Laboratories, as well as collection strains. Collection strains and main isolates are shown in Table 1. To determine exospecificity, 31 non-target strains were used: *Bacillus* sp., *C. m.* subsp. *sepedonicus* (Cms 204, CMS6889 (NCPBP 2137)), *C. m.* subsp. *michiganensis* (CM 4761 (CMM1), HE 11 (CMM2), Cmm Yu-1), *Dickeya chrysanthemi* pv. *chrysanthemi* (DSM 4610), *D. c.* pv. *parthenii* (NCPBP 516), *D. dianthicola* (D3B1, D3B2, D9, D17, D33), *Dickeya* sp. (D1, D8, D9B, D9Tr), *Micrococcus* sp., *Pantoea agglomerans* (DSM 1619, DSM 3493), *P. dispersa* (PD1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (ICMP 9032,

(NCPPB 516), *D. dianthicola* (D3B1, D3B2, D9, D17, D33), *Dickeya* sp. (D1, D8, D9B, D9Tr), *Micrococcus* sp., *Pantoea agglomerans* (DSM 1619, DSM 3493), *P. dispersa* (PD1), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (ICMP 9032, ICMP 9067), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Bel-5, Dasch-1), *X. fragariae* (NCPPB 1469), *X. oryzae* (106, 6163, 8182), *X. oryzae* pv. *oryzae* (NCPPB 3002), *X. vesicatoria* (1111/B).

Опыты по определению С, П и В проводили с использованием штамма 0424 (*R. solanacearum* расы 3 bv. 2 CFBP 3857) в концентрации 5×10^2 КОЕ/мл в 6–10-кратной повторности.

Для приготовления искусственно зараженных экстрактов из суточных культур, выращенных на пептонно-дрожжевом глюкозном агаре (EPPO, 2004; СТО ВНИИКР 4.009-2013), готовили базовую суспензию с концентрацией 10^8 КОЕ/мл в 10-мМ фосфатном буфере (EPPO, 2004; СТО ВНИИКР 4.009-2013). Концентрацию густой суспензии определяли чашечным методом Коха (Егоров, 1995) и доводили до необходимого значения. Готовили растительные экстракты, зараженные возбудителями в необходимой концентрации.

Из экстрактов готовили образцы объемом 200 мкл. В качестве отрицательного контрольного образца выделения ДНК (ОКВ) использовали 200 мкл соответствующего чистого экстракта. На каждые 10 образцов использовали не менее одного ОКВ. В качестве положительного контрольного образца выделения (ПКВ) использовали 200 мкл зараженного экстракта с концентрацией 10^6 КОЕ/мл. Готовые экстракты и выделенную ДНК хранили при температуре -20°C .

Селективность (С) определяли путем сравнения значений В для разных субстратов. При этом недостоверные значения считали отрицательными как показатель влияния субстрата на эффективность теста. При определении В учитывали результаты опытов по определению АЧ, С и П. Недостоверные образцы тестировали повторно с разведением ДНК в воде для ПЦР (1 : 1). Положительные значения повторных тестов учитывали при определении П и В как критериев, отражающих диагностические возможности теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитическая специфичность (АС)

В ходе испытаний было показано, что тесты в формате ПЦР-РВ и FLASH с наборами ООО «Агро-Диагностика», содержащие идентичные олигонуклеотиды, позволяют выявлять генетический материал всех проанализированных штаммов и изолятов видового комплекса *R. solanacearum* s. l. Неспецифических реакций с нецелевыми штаммами не отмечено. Таким образом, АС тестов равна 100% (табл. 1).

Тест с набором ООО «Синтол» для выявления штаммов расы 3 bv. 2 и расы 1 bv. 1, в соответствии со спецификацией производителя, позволяет выявлять штаммы *R. solanacearum* расы 3 bv. 2. Кроме того, были получены слабые положительные реакции в одной из двух повторностей для суспензий чистых культур штамма 0421 (*R. syzygii* subsp. *indonesiensis* CFBP 7288) и типового штамма 0423 (*R. solanacearum* CFBP 2047^T), относящегося к bv. 1 не установленной расы (Ct 34,9 и 35,1 соответственно), что было оценено как отрицательный результат.

ICMP 9067), *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Bel-5, Dasch-1), *X. fragariae* (NCPPB 1469), *X. oryzae* (106, 6163, 8182), *X. oryzae* pv. *oryzae* (NCPPB 3002), *X. vesicatoria* (1111/B).

Эксперименты по определению S, R и Reprod were carried out using strain 0424 (*R. solanacearum* race 3 bv. 2 CFBP 3857) at a concentration of 5×10^2 CFU/ml in 6–10 replicates.

To prepare artificially infected extracts from daily cultures grown on peptone-yeast glucose agar (EPPO, 2004; STO VNIKR 4.009-2013), a base suspension with a concentration of 10^8 CFU/ml in 10-mM phosphate buffer was prepared (EPPO, 2004; STO VNIKR 4.009-2013). The concentration of the thick suspension was determined by the Koch plate method (Egorov, 1995) and adjusted to the required value. Prepared plant extracts infected with pathogens in the required concentration.

Samples with a volume of 200 μL were prepared from the extracts. As a negative control sample of DNA extraction (NCS), 200 μL of the corresponding pure extract was used. For every 10 samples, at least one RCW was used. As a positive control sample of isolation (PCSI), we used 200 μL of contaminated extract with a concentration of 10^6 CFU/ml. The prepared extracts and isolated DNA were stored at -20°C .

Selectivity (S) was determined by comparing Reprod values for different substrates. In this case, unreliable values were considered negative as an indicator of the influence of the substrate on the effectiveness of the test. When determining Reprod, we took into account the results of experiments to determine ASen, S, and R. Invalid samples were retested with a dilution of DNA in water for PCR (1 : 1). Positive values of repeated tests were taken into account when determining R and Reprod as criteria reflecting the diagnostic capabilities of the test.

RESULTS AND DISCUSSION

Analytical specificity (AS)

During the tests, it was shown that the tests in the RT-PCR and FLASH format with AgroDiagnostika kits containing identical oligonucleotides make it possible to identify the genetic material of all analyzed strains and isolates of the species complex *R. solanacearum* s. l. There were no nonspecific reactions with non-target strains. Thus, the AS of tests is 100% (Table 1).

Test with a Syntol kit for the detection of strains of race 3 bv. 2 and races 1 bv. 1, in accordance with the manufacturer's specification, allows the detection of strains of *R. solanacearum* race 3 bv. 2. In addition, weak positive reactions were obtained in one of two replicates for suspensions of pure cultures of strain 0421 (*R. syzygii* subsp. *indonesiensis* CFBP 7288) and species strain 0423 (*R. solanacearum* CFBP 2047^T), belonging to bv. 1 of unknown race (Ct 34.9 and 35.1, respectively), which was assessed as a negative result. In experiments to determine ASen with strains not belonging to the race 3 bv. 2, negative results were obtained for samples with a concentration of 10^2 – 10^6 CFU/ml (Table 1). There were no nonspecific reactions with non-target strains. Thus, our studies have shown

Таблица 1
Аналитическая специфичность тестов в форматах ПЦР-РВ и FLASH с отечественными коммерческими наборами для выявления видов комплекса *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительном экстракте

Штаммы видового комплекса <i>Ralstonia solanacearum sensu lato</i>										Результаты тестирования		
№ п/п	Номер в ВНИИКР	Номер в других коллекциях	Вид	Характеристика штамма	Растение-хозяин	Страна изоляции	Год изоляции	ПЦР-РВ, Ст		FLASH	«АгроДиагностика» «Синтол»	
1	0005	FRs 5	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Египет	2011		+	+	x	17,9
2	0012	FRs 12	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Египет	2011		+	+	x	19,31
3	0021	FRs 21	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Индия	2011		+	+	x	18,07
4	0022	FRs 22	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Индия	2011		+	+	x	19,89
5	0023	FRs 23	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Индия	2011		+	+	x	16,83
6	0024	FRs 24	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Индия	2011		+	+	x	17,77
7	0030	FRs I-1	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 4	<i>S. tuberosum</i>	Китай	2011		+	+	17,3	–
8	0031	FRs I-2	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 4	<i>S. tuberosum</i>	Китай	2011		+	+	x	–
9–14	0033–38	MRS1–MRS6	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Россия	2011		+	+	x	x
15	0039	NCPPB 2315	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. I, race 2, bv. 1	<i>Musa</i> sp.	Перу	1970		+	+	17,1	–
16	0040	NCPPB 2316	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Австралия	1970		+	+	14,7	23,8 ³
17	0042	АОВС PPSCD 1071	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Венгрия	1999		+	+	21,3	16,6
18	0136	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Китай	2013		+	+	20,0	17,0
19	0209	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Бангладеш	2014		+	+	18,7	15,6
20	0249	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Россия	2015		x ¹	+	17,2	15,8
21	0303	–	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Азербайджан	2017		x	+	16,0	14,0
22	0421	CFBPR 7288	<i>R. syzygii</i> subsp. <i>indonesiensis</i>	Phyl. IV, sequevar 10	<i>S. lycopersicum</i>	Индонезия	1999		8,73 ²	+	31,0	34,8 ⁴
23	0422	CFBPR 6442	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Race 5, bv. 5	<i>Morus alba</i>	Китай	–		10,60	+	30,5	–
24	0423	CFBPR 2047 [†]	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, bv. 1	<i>S. lycopersicum</i>	США	1953		9,68	+	15,5	35,1 ⁴
25	0424	CFBPR 3857	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Нидерланды	1995		11,70	+	20,8	11,22
26	0425	CFBPR 1412	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 2, bv. 1	<i>Musa</i> sp.	Колумбия	1965		13,20	+	32,0	–
27	0499	CFBPR 6424	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 3	<i>S. lycopersicum</i>	Французская Гвинея	–		11,50	+	29,8 ³	–

¹ Исследования не проводились. ³ Значение порогового цикла указано для концентрации 10⁶ КОЕ/мл.  – положительный результат
² Относительные единицы флуоресценции ⁴ Результаты получен в одной из двух повторностей для суспензий чистых культур с концентрацией около 10⁹ КОЕ/мл.  – отрицательный результат

Table 1
Analytical specificity of tests in RT-PCR and FLASH formats with Russian commercial kits to identify species of the *Ralstonia solanacearum sensu lato* complex in plant extract

Strains of *Ralstonia solanacearum sensu lato* complex species

№	Number in the VNIIR collection	Number in other collections	Species	Strain characteristics	Host Plant	Isolation country	Isolation year	Test results		
								FLASH	AgroDiagnostika	Syntol
1	0005	FRs 5	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Egypt	2011	+	x	17.9
2	0012	FRs 12	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Egypt	2011	+	x	19.31
3	0021	FRs 21	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	India	2011	+	x	18.07
4	0022	FRs 22	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	India	2011	+	x	19.89
5	0023	FRs 23	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	India	2011	+	x	16.83
6	0024	FRs 24	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	India	2011	+	x	17.77
7	0030	FRs I-1	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 4	<i>S. tuberosum</i>	China	2011	+	17.3	–
8	0031	FRs I-2	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 4	<i>S. tuberosum</i>	China	2011	+	x	–
9–14	0033–38	MRs1–MRs6	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Russia	2011	+	x	x
15	0039	NCPBP 2315	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. I, race 2, bv. 1	<i>Musa</i> sp.	Peru	1970	+	17.1	–
16	0040	NCPBP 2316	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Australia	1970	+	14.7	23.8 ³
17	0042	AOBC PPSCD 1071	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Hungary	1999	+	21.3	16.6
18	0136	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	China	2013	+	20.0	17.0
19	0209	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Bangladesh	2014	+	18.7	15.6
20	0249	–	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Russia	2015	x ¹	17.2	15.8
21	0303	–	<i>R. solanacearum</i>	Race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Azerbaijan	2017	x	16.0	14.0
22	0421	CFBP 7288	<i>R. syzygii</i> subsp. <i>indonesiensis</i>	Phyl. IV, sequevar 10	<i>S. lycopersicum</i>	Indonesia	1999	8.73 ²	31.0	34.8 ⁴
23	0422	CFBP 6442	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Race 5, bv. 5	<i>Morus alba</i>	China	–	10.60	30.5	–
24	0423	CFBP 2047 ^T	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, bv. 1	<i>S. lycopersicum</i>	USA	1953	9.68	15.5	35.1 ⁴
25	0424	CFBP 3857	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 3, bv. 2	<i>S. tuberosum</i>	Netherlands	1995	11.70	20.8	11.22
26	0425	CFBP 1412	<i>R. solanacearum</i>	Phyl. II, race 2, bv. 1	<i>Musa</i> sp.	Colombia	1965	13.20	32.0	–
27	0499	CFBP 6424	<i>R. pseudosolanacearum</i>	Phyl. I, race 1, bv. 3	<i>S. lycopersicum</i>	French Guiana	–	11.50	29.8 ³	–

¹ No studies have been carried out.

² The relative units of fluorescence versus background samples.

³ The cycle threshold value is indicated for a concentration of 10⁶ CFU/ml.

⁴ The result was obtained in one of two replicates for suspensions of pure cultures with a concentration of about 10⁹ CFU/ml.

– positive result
– negative result

Таблица 2

Аналитическая чувствительность тестов в формате ПЦР-РВ и FLASH с отечественными коммерческими наборами для выявления возбудителей видов комплекса *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительном экстракте¹

Table 2

Analytical sensitivity of RT-PCR and FLASH tests with Russian commercial kits for detecting pathogens of the *Ralstonia solanacearum sensu lato* species complex in plant extract¹

		Виды комплекса <i>Ralstonia solanacearum sensu lato</i> Species of <i>Ralstonia solanacearum sensu lato</i> complex																						
Конц., КОЕ/мл Conc, CFU/ml		<i>Ralstonia solanacearum</i>															<i>Ralstonia pseudosolanacearum</i>					<i>Ralstonia syzygii</i> subsp. <i>indone-siensis</i>		
		раса 3 биовар 2 race 3 biovar 2										биовар 1 biovar 1					раса 5 биовар 5 race 5 biovar 5		раса 1 биовар 3 race 1 biovar 3					
Штамм Strain		0040 NCPBPB 2316				0424 CFBP 3857						0039 NCPBPB 2315		0423 CFBP 2047 [†]		0425 CFBP 1412		0422 CFBP 6442		0499 CFBP 6424			0421 CFBP 7288	
Тест Test		FLASH ²	Агрод РВ ² RT Agrod ²	Синтол РВ ² RT Syntol ²	Агрод РВ ³ RT Agrod ³	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	Синтол РВ RT Syntol	FLASH ⁴	Агрод РВ ⁴ RT Agrod ⁴	Синтол РВ ⁴ RT Syntol ⁴	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	FLASH	Агрод РВ RT Agrod	Агрод РВ ⁵ RT Agrod ⁵	FLASH	Агрод РВ RT Agrod
10 ¹		1,03	x ⁶	x	38,9	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		0,99	–	–	39,5	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
		4,67	41,8	32,1	39,2	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
10 ²		6,35	36,3	31,5	36,3	1,12	–	–	0,95	–	–	3,00	36,2	0,99	–	1,15	–	1,08	–	1,06	–	–	0,97	–
		7,93	38,0	32,5	36,3	1,03	36,7	–	3,09	–	–	1,32	36,8	2,94	–	1,19	–	1,11	–	1,09	–	–	0,98	–
		4,46	36,2	32,4	36,6	4,93	37,9	33,4	4,05	36,8	–	5,75	36,4	4,36	39,0	1,09	37,8	4,07	38,5	1,15	–	–	1,03	–
10 ³		8,99	33,3	30,1	34,0	9,28	35,1	31,9	7,57	34,4	33,1	8,14	32,7	4,28	–	4,80	36,5	4,42	39,5	3,45	–	–	1,01	–
		10,10	33,2	30,1	34,3	9,14	35,3	32,7	2,72	34,3	32,0	7,67	33,1	5,78	35,9	4,96	36,2	6,32	36,4	6,40	–	–	1,10	–
		10,30	32,7	30,1	34,1	8,56	35,1	31,6	7,56	35,3	32,0	7,84	33,0	5,76	37,9	6,81	36,5	6,37	35,8	5,25	–	–	0,95	–
10 ⁴		10,20	29,8	27,2	35,6	10,70	31,3	29,4	9,19	30,8	29,6	10,0	29,8	6,26	32,2	9,70	33,3	6,89	34,7	2,72	–	–	5,94	36,5
		10,70	29,8	27,7	34,1	10,80	31,8	29,2	9,67	31,4	29,6	9,76	29,7	8,49	31,8	9,91	33,4	8,07	33,9	5,38	36,6	37,8	9,06	36,1
10 ⁶		11,60	23,8	20,8	26,9	11,70	25,0	22,3	9,42	24,8	23,1	9,84	23,0	9,68	25,7	13,20	26,3	10,60	26,4	11,50	29,8	31,6	8,73	30,2

¹ Для *R. solanacearum* bv. 1 (CFBP 2047^T), *R. pseudosolanacearum* (CFBP 6442) и *R. syzygii* (CFBP 7288) получены отрицательные результаты теста с набором ООО «Синтол» (не приведены).

² Для теста на основе FLASH данные представлены в относительных единицах флуоресценции относительно фоновых образцов; для ПЦР-РВ указан Ct.

³ Опыт проведен с независимо приготовленными образцами. ДНК каждой концентрации была выделена в 1-кратной повторности, амплификация – в 3-кратной. Для концентрации 10⁶ КОЕ/мл приведено среднее значение повторностей, для концентрации 10⁴ КОЕ/мл – крайние значения повторностей.

⁴ Повторная амплификация после хранения при –20 °C.

⁵ Повторное выделение ДНК из искусственно зараженных экстрактов, хранившихся при –20 °C.

⁶ Исследования не проводились.

– положительный результат
– отрицательный результат
– недостоверный результат

¹ For *R. solanacearum* bv. 1 (CFBP 2047^T), *R. pseudosolanacearum* (CFBP 6442) and *R. syzygii* (CFBP 7288) – negative test results with a Syntol kit (not shown).

² For the FLASH-based test, data are presented in relative fluorescence units relative to background samples; for RT-PCR, Ct is indicated.

³ The experiment was carried out with independently prepared samples. DNA of each concentration was isolated in 1-fold replication, amplification – in 3-fold. For a concentration of 10⁶ CFU/ml, the average value of replicates is given, for a concentration of 10⁴ CFU/ml – the extreme values of replicates.

⁴ Re-amplification after storage at –20 °C.

⁵ Re-isolation of DNA from artificially contaminated extracts stored at –20 °C.

⁶ No studies have been carried out.

– positive result
– negative result
– unreliable result

В опытах по определению АЧ со штаммами, не относящимися к расе 3 bv. 2, были получены отрицательные результаты для образцов с концентрацией 10^2 – 10^6 КОЕ/мл (табл. 1). Неспецифических реакций с нецелевыми штаммами не отмечено. Таким образом, в наших исследованиях показана высокая специфичность теста к *R. solanacearum* расы 3 bv. 2. Вопрос о заявленной производителем возможности выявлять *R. solanacearum* расы 1 bv. 1 с помощью данного теста не изучался.

Аналитическая чувствительность (АЧ)

В опытах по определению аналитической специфичности (АС) было отмечено, что для некоторых штаммов видового комплекса *R. solanacearum* s. l. значения порогового цикла существенно отличались от характерного показателя для суспензий чистых культур, составлявшего около 15–20, и находились на отметке от 30,5 до 32,0 (табл. 1). В связи с этим было выдвинуто предположение о возможной зависимости АЧ тестов от вида и/или штамма патогена, что ранее было описано для теста на основе LAMP по Lenarčič et al. (2014), включенного в Стандарт РМ 7/21 (2) (ЕРРО, 2018). Опыты были проведены с восьмью коллекционными штаммами видового комплекса. Результаты представлены в таблице 2.

Для штаммов *R. solanacearum* расы 3 bv. 2 АЧ всех испытуемых тестов была практически одинакова для каждого из штаммов, но различалась между штаммами. Так, для штамма 0040 (NCPPB 2316) АЧ составила 10^1 – 10^2 КОЕ/мл, тогда как для штамма 0424 (CFBP 3857) АЧ была на порядок ниже и составила 10^2 – 10^3 КОЕ/мл.

АЧ тестов с наборами производства ООО «АгроДиагностика» к трем штаммам *R. solanacearum* bv. 1 и *R. pseudosolanacearum* bv. 5 также составила 10^2 – 10^3 КОЕ/мл. Для штамма *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* АЧ не отличалась для обоих тестов, однако составила только 10^4 КОЕ/мл, что указывает на меньшее сродство тест-систем к данному штамму.

В отличие от штаммов, описанных выше, АЧ тестов с наборами производства ООО «АгроДиагностика» в разных форматах значительно отличалась для штамма 0499 *R. pseudosolanacearum* bv. 3 (CFBP 6424). АЧ теста в формате FLASH составила 10^3 КОЕ/мл, тогда как для ПЦР-РВ значение критерия, полученное при тестировании двух серий искусственно зараженных экстрактов, составило лишь 10^4 – 10^5 КОЕ/мл.

Отмечено, что для тестов со штаммами 0039 (NCPPB 2315) и 0040 (NCPPB 2316), полученными из Британской национальной коллекции фитопатогенных бактерий, АЧ была выше, чем с другими штаммами этих же групп. Так, для штамма 0039 положительные результаты тестов с наборами ООО «АгроДиагностика» в формате FLASH и ПЦР-РВ были получены соответственно для 67–100% образцов с низкой концентрацией – 10^2 КОЕ/мл. При этом для других штаммов положительные результаты при данной концентрации были получены для 33–67% и 0–33% образцов.

Особый интерес представляют результаты опытов по определению АЧ всех испытуемых тестов со штаммом 0040, составившей 10^1 – 10^2 КОЕ/мл, как указано выше.

Согласно расчетам, при выделении ДНК из 200 мкл экстракта с получением 100 мкл очищенной ДНК и при использовании для амплификации 5 мкл, единичные копии цели будут

а high specificity of the test for *R. solanacearum*, race 3 bv. 2. The question of the manufacturer's declared ability to detect *R. solanacearum* race 1 bv. 1 not studied with this test.

Analytical sensitivity (ASen)

In experiments to determine analytical specificity (AS), it was noted that for some strains of the species complex *R. solanacearum* s. l. the values of the threshold cycle significantly differed from the characteristic indicator for suspensions of pure cultures, which was about 15–20, and ranged from 30.5 to 32.0 (Table 1). In this regard, a hypothesis was put forward about the possible dependence of ASen tests on the species and/or strain of the pathogen, which was previously described for the LAMP-based test according to Lenarčič et al. (2014) included in Standard RM 7/21 (2) (EPPO, 2018). The experiments were carried out with eight collection strains of the species complex. The results are presented in Table 2.

For strains of *R. solanacearum* race 3 bv. 2, the ASen of all the tested tests was practically the same for each of the strains, but differed among the strains. Thus, for the 0040 (NCPPB 2316) strain, the ASen was 10^1 – 10^2 CFU/ml, while for the 0424 (CFBP 3857) strain, the ASen was quite lower and amounted to 10^2 – 10^3 CFU/ml.

ASen tests with AgroDiagnostika kits for three strains *R. solanacearum* bv. 1 and *R. pseudosolanacearum* bv. 5 was also 10^2 – 10^3 CFU/ml. For the strain *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* ASen did not differ for both tests, however, it was only 10^4 CFU/ml, which indicates a lower affinity of test systems for this strain.

Unlike the strains described above, the ASen tests with AgroDiagnostika kits in different formats differed significantly for the 0499 *R. pseudosolanacearum* bv. 3 (CFBP 6424). The ASen test in the FLASH format was 10^3 CFU/ml, while for RT-PCR the criterion value obtained when testing two series of artificially infected extracts was only 10^4 – 10^5 CFU/ml.

It was noted that for tests with strains 0039 (NCPPB 2315) and 0040 (NCPPB 2316) obtained from the British National Collection of Phytopathogenic Bacteria, the ASen was higher than with other strains of the same groups. Thus, for strain 0039, positive test results with AgroDiagnostika kits in FLASH and RT-PCR format were obtained, respectively, for 67–100% of samples with a low concentration – 10^2 CFU/ml. Moreover, for other strains, positive results at this concentration were obtained for 33–67% and 0–33% of the samples.

Of particular interest are the results of experiments to determine the ASen of all tested tests with strain 0040, which amounted to 10^1 – 10^2 CFU/ml, as indicated above.

According to calculations, when DNA is isolated from 200 μ l of the extract to obtain 100 μ l of purified DNA and when 5 μ l is used for amplification, single copies of the target will react at a concentration of at least 2×10^2 CFU/ml, i. e., the ASen of an effective test is theoretically should be 10^2 – 10^3 CFU/ml. Such values of the working criterion were obtained for most of the strains in this study, as well as when validating tests with similar kits of these companies to identify the causative

попадать в реакцию при концентрации не менее 2×10^2 КОЕ/мл, т. е. АЧ эффективного теста теоретически должна составить 10^2 – 10^3 КОЕ/мл. Такие значения рабочего критерия получены для большинства штаммов в данном исследовании, а также при проведении валидации тестов с аналогичными наборами этих компаний для выявления возбудителя ожога плодовых культур *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. (Дренова, 2019).

Устойчивое превышение расчетного показателя АЧ указывает на копийность целевого фрагмента в образце, которое может быть вызвано прочным сцеплением клеток, приводящим к ошибке в определении концентрации искусственно зараженных экстрактов. Также возможно наличие копий цели в геноме клеток, например, в случае ее расположения в плазмидной ДНК.

Повторяемость (П), воспроизводимость (В) и селективность (С)

Для определения рабочих критериев повторяемости (П) и воспроизводимости (В) тестов с наборами ООО «АгроДиагностика», признанных в предыдущих опытах универсальными к штаммам видового комплекса *R. solanacearum* s. l., выбрали 3 штамма, относящихся к разным группам и показавших близкие значения АЧ (10^2 – 10^3 КОЕ/мл) (табл. 3, 4).

Повторяемость теста в формате FLASH для штамма 0422 (*R. pseudosolanacearum* CFBP 6442) варьировала от 20 до 90%. Воспроизводимость составила 47%. Для штамма 0423 (*R. solanacearum* bv. 1 CFBP 2047^T) значение П составило 80–100%, В – 93%. Рабочие критерии зависели от оператора и, возможно, от условий хранения образцов (табл. 3).

Повторяемость теста в формате ПЦР-РВ с набором ООО «АгроДиагностика» для штамма 0422 варьировала от 10 до 70%. Воспроизводимость составила 50%. Для штамма 0423 П составила 70–100%, В – 86%. Рабочие критерии зависели от оператора, прибора и, возможно, от условий хранения образцов (табл. 3).

Кроме того, рабочие критерии П, В и С для всех тестов были определены с использованием штамма 0424 *R. solanacearum* CFBP 3857 расы 3 bv. 2 (табл. 4, 5, 6).

Для теста в формате FLASH были получены высокие значения П – 90–100% и В – 95%. Для экстрактов роз значения П и В на уровне 100% были близки к значениям, полученным с экстрактами картофеля. Однако для экстрактов роз в одной из повторностей отмечены значительно более низкие значения ВК и недостоверный результат в одном из образцов, что указывает на возможные трудности при очистке ДНК из данного субстрата. Достоверно положительный результат получен в 92% образцов экстрактов роз (табл. 4).

Для теста на основе ПЦР-РВ с набором ООО «АгроДиагностика» для экстрактов клубней картофеля показана высокая П с использованием прибора «ДТ-лайт» (90–100%), однако для прибора «АНК-32» этот показатель составил лишь 30%. В опыте с экстрактами вегетативных частей картофеля значения П для разных приборов не отличались (90%), однако значения пороговых циклов (34,5–37,9 и 39,4–41,82 соответственно) также указывали на более высокую эффективность реакции на приборе «ДТ-лайт». Таким образом, значение В теста на приборе «ДТ-лайт» составило 93%,

agent of fireblight *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. (Дренова, 2019).

A persistent excess of the calculated ASen index indicates the copy number of the target fragment in the sample, which can be caused by strong adhesion of cells, leading to an error in determining the concentration of artificially infected extracts. It is also possible that copies of the target are present in the cell genome, for example, in the case of its location in plasmid DNA.

Repeatability (R), reproducibility (Reprod) and selectivity (S)

To determine the working criteria of repeatability (R) and reproducibility (Reprod) of tests with AgroDiagnostika kits recognized in previous experiments as universal to the strains of the species complex *R. solanacearum* s. l., chose 3 strains belonging to different groups and showing similar values of ASen (10^2 – 10^3 CFU/ml) (Tables 3, 4).

The repeatability of the FLASH test for strain 0422 (*R. pseudosolanacearum* CFBP 6442) varied from 20 to 90%. The reproducibility was 47%. For strain 0423 (*R. solanacearum* bv. 1 CFBP 2047^T), the R value was 80–100%, Reprod – 93%. The performance criteria depended on the operator and possibly on the storage conditions of the samples (Table 3).

The repeatability of the test in the RT-PCR format with AgroDiagnostika kit for the strain 0422 varied from 10 to 70%. The reproducibility was 50%. For strain 0423, R was 70–100%, Reprod – 86%. The performance criteria depended on the operator, the instrument, and possibly the storage conditions of the samples (Table 3).

In addition, the performance criteria R, Reprod and S for all the tests were determined using strain 0424 *R. solanacearum* CFBP 3857 race 3 bv. 2 (Tables 4, 5, 6).

For the test in FLASH format, high values of R – 90–100% and Reprod – 95% were obtained. For rose extracts, the R and Reprod values at the 100% level were close to the values obtained with potato extracts. However, for rose extracts in one of the replicates, significantly lower internal control of PCR (IC) values and an unreliable result in one of the samples were noted, which indicates possible difficulties in DNA purification from this substrate. A reliably positive result was obtained in 92% of the samples of rose extracts (Table 4).

For a test based on RT-PCR with an AgroDiagnostika kit for potato tuber extracts, a high R was shown using the DT-light machine (90–100%), but for the ANK-32 device this figure was only 30%. In the experiment with extracts of vegetative parts of potatoes, the R values for different devices did not differ (90%), however, the values of the threshold cycles (34.5–37.9 and 39.4–41.82, respectively) also indicated a higher reaction efficiency on the DT-light machine. Thus, the Reprod value of the test on the DT-light machine was 93%, and taking into account the experience on the ANK-32 amplifier – 62%. Selectivity in relation to rose extracts in comparison with extracts of tubers and vegetative parts of potatoes, as well as for the test in the FLASH

Таблица 3

Повторяемость и воспроизводимость тестов в формате FLASH и ПЦР-РВ с коммерческими наборами ООО «АгроДиагностика»

Table 3

Repeatability and reproducibility of FLASH and RT-PCR tests with commercial AgroDiagnostika kits

№ п/п №	FLASH, ОФ ¹ FLASH, RF ¹			ПЦР-РВ, Ct RT-PCR, Ct				
	Терцик Tertsik			ДТ-лайт DT-light			ДТ-прайм DT-prime	
	оператор 1 operator 1	оператор 2 operator 2		оператор 1 operator 1	оператор 2 operator 2			
	1	2 ²	3 ²	1	2 ²	3 ²	2	3
Повторность Repetition	1	2 ²	3 ²	1	2 ²	3 ²	2	3
0422 <i>Ralstonia pseudosolanacearum</i> CFBP 6442								
1	5,77	0,91	0,94	36,4	38,1	–	–	–
2	4,80	1,63	3,56	–	–	–	39,2	39,0
3	1,06	5,26	0,93	36,7	–	–	39,0	37,8
4	5,43	4,41	1,53	38,7	37,2	37,9	38,6	–
5	5,10	0,97	1,37	38,4	–	–	38,8	38,9
6	4,35	3,39	3,67	–	–	–	39,5	38,9
7	4,62	0,94	1,07	–	37,6	–	–	38,9
8	3,33	0,98	0,98	38,7	38,0	–	38,8	–
9	4,68	0,86	0,99	–	39,4	–	39,0	39,1
10	5,08	0,93	1,01	–	–	–	–	37,7
П R	90%	30%	20%	50%	50%	10%	70%	70%
B Reprod	47%			36,7%			70%	
				50%				
0423 <i>Ralstonia solanacearum</i> bv. 1 CFBP 2047 ^T								
1	6,46	1,22	6,64	36,0	36,3	36,1	36,3	–
2	5,49	6,12	5,55	36,7	37,8	39,8	–	39,0
3	7,26	5,23	4,81	37,2	35,9	37,5	37,2	37,8
4	8,18	6,72	6,95	36,5	–	–	38,6	–
5	6,40	5,82	1,04	35,3	–	40,1	37,8	38,9
6	3,65	6,56	4,23	37,4	37,5	36,6	38,7	38,9
7	8,10	0,98	2,19	36,7	36,8	37,3	38,5	38,9
8	2,06 ³	4,36	5,88	37,8	39,1	37,1	38,7	–
9	4,64	2,85	1,37	38,8	40,6	–	–	39,1
10	6,18	4,97	3,76	38,3	38,2	36,0	38,7	37,7
П R	100%	80%	80%	100%	80%	80%	80%	70%
B Reprod	93%			87%			75%	
				86%				

¹ ОФ – относительные единицы флуоресценции по сравнению с фоновыми образцами.

² Амплификация проведена после хранения выделенной ДНК при –20 °С.

³ Пограничный результат оценен как положительный, т. к. на практике такие образцы должны быть протестированы повторно с увеличением объема образца.

– положительный результат – отрицательный результат – пограничный результат

¹ RF – relative units of fluorescence compared to background samples.

² Amplification was carried out after storage of the isolated DNA at –20 °C.

³ The borderline result is assessed as positive, since in practice such samples must be retested with increasing sample volume.

– positive result – negative result – borderline result

Таблица 4
Селективность, повторяемость и воспроизводимость теста в формате FLASH с коммерческим набором ООО «АгроДиагностика»¹

Table 4
Selectivity, repeatability and reproducibility of the test in FLASH format with a commercial AgroDiagnostika kit¹

Растительный экстракт Plant extract	Результаты (относительные единицы флуоресценции, ОФ) Results (relative units of fluorescence, RF)							
	Клубни картофеля Potato tubers				Розы Roses			
	1		2		1		2	
Повторность Repetition	Цель Target	ВК IC	Цель Target	ВК IC	Цель Target	ВК IC	Цель Target	ВК IC
1	6,22	11,10	6,58	11,70	5,12	4,30	6,31	15,90
2	5,48	10,70	5,96	11,50	2,53	0,75	6,02	14,00
3	0,97	13,10	5,92	11,60	3,45 ²	0,92	7,20	14,30
4	6,79	11,0	4,44	11,40	5,91	0,82	6,49	13,90
5	6,80	12,0	5,15	12,40	6,78	2,32	7,13	10,80
6	5,68	11,20	6,60	12,10	4,58	0,79	6,97	10,50
7	5,95	11,30	5,94	12,10				
8	4,65	10,30	4,40	11,50				
9	4,13	12,50	5,99	12,50				
10	6,15	12,12	6,73	12,00				
П R	90%		100%		100%		100%	
С S	95%				92%			
В Reprod	95%				100%			
В общая Reprod total	97,5%							

¹ Для опытов использовали коллекционный штамм 0424 *R. solanacearum* CFBP 38572.

² Результат получен в дополнительной реакции с разведением ДНК образца в воде для ПЦР (1 : 1).

¹ Collection strain 0424 *R. solanacearum* CFBP 38572 was used for the experiments.

² The result was obtained in an additional reaction with a dilution of the DNA sample in water for PCR (1: 1).

а с учетом опыта на амплификаторе «АНК-32» – 62%. Селективность в отношении экстрактов роз в сравнении с экстрактами клубней и вегетативных частей картофеля, как и для теста в формате FLASH, проявилась в ингибировании ВК и получении недостоверных результатов (табл. 5, рис. «Протокол опыта по определению селективности теста ПЦР-РВ с набором ООО «АгроДиагностика»).

Для оценки влияния амплификатора на В и уточнения АЧ с использованием прибора «АНК-32», дополнительно провели опыт с ранее выделенной ДНК экстрактов, инокулированных разными штаммами возбудителя в более высокой концентрации – 10³ КОЕ/мл. Для амплификации использовали по 2 образца ДНК каждого штамма, показавших положительный результат на приборе «ДТ-лайт».

В пределах АЧ, составившей 10³ КОЕ/мл, П теста на приборе «АНК-32» составила 75%, В с учетом данных двух приборов – 87,5%. Значения пороговых циклов как цели, так и ВК образцов были значительно ниже на детектирующем амплификаторе

format, manifested itself in the inhibition of IC and obtaining unreliable results (Table 5, Fig. “Experimental protocol for determining the selectivity of the RT-PCR test with AgroDiagnostika kit”).

To assess the influence of the amplifier on Reprod and refine the ASen using the ANK-32, we additionally conducted an experiment with previously isolated DNA extracts inoculated with different strains of the pathogen at a higher concentration – 10³ CFU/ml. For amplification, 2 DNA samples of each strain were used, which showed a positive result on the DT-light.

Within the ASen, which amounted to 10³ CFU/ml, the R of the test on the ANK-32 was 75%, Reprod, taking into account these two devices – 87.5%. The values of the threshold cycles of both the target and the IC of the samples were significantly lower on the qPCR machine DT-light in comparison with ANK-32 (Table 6).

Таблица 5

Селективность, повторяемость и воспроизводимость теста ПЦР-РВ с коммерческим набором ООО «АгроДиагностика»¹

Table 5

Selectivity, repeatability and reproducibility of the RT-PCR test with a commercial AgroDiagnostika kit¹

Растительный экстракт Plant extract	Результаты, Ct Results, Ct									
	Клубни картофеля Potato tubers				Вер. части картофеля Veg. parts of potatoes			Розы Roses		
Прибор Device	ДТ-лайт DT-light		АНК-32 ANK-32		ДТ-лайт DT-light		АНК-32 ANK-32		ДТ-лайт DT-light	
Повторность Repetition	1	2	3	1	1	2	3	1 ²	2 ²	3
1	36,0	35,7	35,8	–	36,2	35,8	41,45	35,5	37,1	37,6
2	36,3	37,4	36,0	40,18	37,6	35,9	39,62	37,7	36,3 ³	36,9
3	36,3	36,1	35,4	–	36,6	36,7	39,40	37,3	38,1	35,7
4	37,0	38,5	36,9	39,96	38,5	37,2	40,07	38,5 ³	36,4	38,2
5	36,0	37,0	35,7	–	36,2	36,5	41,47	36,7	36,7	35,5
6	36,7	36,1	34,5	–	35,3	36,1	41,82	37,1	35,5	36,4
7	36,3	35,5	37,2	–	37,2	–	42,64			
8	37,5	35,1	36,2	–	35,7	–	40,48			
9	37,3	–	–	–	36,5	35,4	40,25			
10	37,9	36,4	35,5	40,15	35,9	35,5	–			
П R	100%	90%	90%	30%	100%	80%	90%	100%	100%	100%
С, В S, Reprod	93%			х	90%		х	88,7%		
В Reprod	62%				90%			100%		
В общая ДТ-лайт Reprod	95%									
В общая Reprod	88%									

¹ Для опытов использовали коллекционный штамм 0424 *R. solanacearum* CFBP 3857.

² Реакция ВК для большинства образцов отрицательна (см. рисунок).

³ Результат получен в дополнительной реакции с разведением ДНК образца в воде для ПЦР (1 : 1).

¹ Collection strain 0424 *R. solanacearum* CFBP 3857 was used for the experiments.

² The IC reaction is negative for most of the samples (see Fig.).

³ The result was obtained in an additional reaction with a dilution of the DNA sample in water for PCR (1: 1).

«ДТ-лайт» по сравнению с прибором «АНК-32» (табл. 6).

Для теста на основе ПЦР-РВ с набором ООО «Синтол» так же, как и для теста с набором ООО «АгроДиагностика», отмечено значительное влияние прибора на эффективность реакции в образцах клубней. Селективность в отношении экстрактов роз в сравнении с экстрактами клубней и вегетативных частей картофеля проявилась в нестабильности и более низких значениях П и В (табл. 7).

Рабочие критерии тестов на основе ПЦР с флуоресцентной меткой с отечественными коммерческими наборами для выявления ДНК видов комплекса *R. solanacearum* s. l. в растительном экстракте растений-хозяев представлены в таблице 8.

For a test based on RT-PCR with a Syntol kit, as well as for a test with an AgroDiagnostika kit, a significant effect of the device on the reaction efficiency in tuber samples was noted. Selectivity in relation to rose extracts in comparison with extracts of tubers and vegetative parts of potatoes manifested itself in instability and lower values of R and Reprod (Table 7).

Working criteria for tests based on PCR with a fluorescent label with Russian commercial kits for detecting DNA of species of the *R. solanacearum* s. l. in the plant extract of the host plants are presented in Table 8.

ВЫВОДЫ

1) Для тестов с наборами производства ООО «Агро-Диагностика» в формате FLASH и ПЦР-РВ установлены следующие значения рабочих критериев:

– аналитическая специфичность тестов – 100%;

– аналитическая чувствительность – 10^1 – 10^2 или 10^2 – 10^3 КОЕ/мл для штаммов *Ralstonia solanacearum* и *R. pseudosolanacearum* CFBP 6442 расы 5 bv. 5 и 10^4 КОЕ/мл для штамма *R. pseudosolanacearum* CFBP 6424 расы 1 bv. 3 и *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* CFBP 7288;

– селективность отмечена для экстракта роз в случае содержания повышенного количества растительных компонентов;

– повторяемость и воспроизводимость тестов в пределах аналитической чувствительности (5×10^2 КОЕ/мл) достигали 97,5 и 95% соответственно при использовании амплификаторов производства ООО «ДНК-Технология». Использование прибора «АНК-32» (ООО «Синтол») снижало чувствительность теста на порядок;

Таблица 6
Повторяемость и воспроизводимость теста в формате ПЦР-РВ с набором ООО «АгроДиагностика» для образцов с концентрацией 10^3 КОЕ/мл

Table 6
Repeatability and reproducibility of the test in the RT-PCR format with an AgroDiagnostika kit for samples with a concentration of 10^3 CFU/ml

Образец Sample	Результаты, Ct*			
Прибор Device	ДТ-лайт DT-light		АНК-32 ANK-32	
	Цель Target	ВК IC	Цель Target	ВК IC
0039 10 ³ -1	32,7	26,4	37,30	31,44
0039 10 ³ -2	33,1	26,5	37,84	31,53
0040 10 ³ -1	36,7	26,8	37,45	31,49
0040 10 ³ -2	35,1	26,5	37,62	31,41
0422 10 ³ -1	39,5	27,2	42,65	32,59
0422 10 ³ -2	36,4	27,4	39,56	31,28
0423 10 ³ -1	35,9	27,4	39,83	31,68
0423 10 ³ -2	37,9	26,6	–	31,57
0424 10 ³ -1	35,1	26,5	40,05	32,37
0424 10 ³ -2	35,3	26,5	39,52	31,71
0425 10 ³ -1	36,5	26,8	–	31,71
0425 10 ³ -2	36,2	26,2	–	31,85
П R	100%		75%	
В Reprod	87,5%			

* Приведены средние значения опытов по определению АЧ.

* The average values of the experiments to determine the ASen are given.

Номер лунки	Идентификатор пробики	Ct. Fam	Ct. Hex	Результат
A1	0424_век-част.-1	36,2	26,4	+
A2	424_век-част.-2	37,6	26,7	+
A3	424_век-част.-3	36,6	26,7	+
A4	0424_век-част.-4	38,5	26,8	+
A5	0424_век-част.-5	36,2	26,9	+
A6	0424_век-част.-6	35,3	26,6	+
A7	0424_век-част.-7	37,2	26,7	+
A8	424_век-част.-8	35,7	26,5	+
B1	0424_век-част.-9	36,5	26,5	+
B2	0424_век-част.-10	35,9	26,7	+
B3	ОКВ_век_части		26,7	–
B4	0424_розы-1	35,5		+
B5	0424_розы-2	37,7		+
B6	424_розы-3	37,3		+
B7	424_розы-4			нд
B8	0424_розы-5	36,7		+
C1	424_розы-6	37,1		+
C2	ОКВ_розы		29,5	–
C3	ПКВ_10_6	25,1	26,6	+
C4	ПКА	26,1	26,5	+
C5	ОКА		26,6	–

* Ручной (Пороговый) метод анализа (B.F) Threshold_FAM = 73,8 Threshold_HEX =

Рисунок. Протокол опыта по определению селективности теста ПЦР-РВ с набором ООО «АгроДиагностика»

Fig. Experimental protocol for determining the selectivity of the RT-PCR test with an AgroDiagnostika kit

SUMMARY

1) For tests with AgroDiagnostika kits in FLASH format and RT-PCR, the following values of working criteria are set:

– analytical specificity of tests – 100%;

– analytical sensitivity – 10^1 – 10^2 or 10^2 – 10^3 CFU/ml for the strains *Ralstonia solanacearum* and *R. pseudosolanacearum* CFBP 6442 race 5 bv. 5 and 10^4 CFU/ml for the strain *R. pseudosolanacearum* CFBP 6424 race 1 bv. 3 and *R. syzygii* subsp. *indonesiensis* CFBP 7288;

– selectivity was noted for rose extract in the case of the content of an increased amount of plant components;

– the repeatability and reproducibility of tests within the analytical sensitivity (5×10^2 CFU/ml) reached 97.5 and 95%, respectively, when using DNA-Technology amplifiers. The use of the ANK-32 device (Syntol) significantly reduced the sensitivity of the test;

– the test criteria did not differ in general, however, for the strain *R. pseudosolanacearum* CFBP 6424 race 1 bv. 3 the analytical sensitivity of the test in FLASH format reached 10^2 – 10^3 CFU/ml, the reproducibility of the test was slightly higher.

2) For a test based on RT-PCR with a Syntol kit, in accordance with the manufacturer's specification, endo-specificity is shown for *R. solanacearum* strains race 3 bv. 2. Exospecificity was 100%. Other performance criteria were slightly lower than those of the tests with the AgroDiagnostika kits:

– the repeatability and reproducibility within the analytical sensitivity (5×10^2 CFU/ml), determined using the qPCR machine DT-light by DNA-Technology, were 50–90% and 77%, respectively. When using the ANK-32 device, a decrease in the sensitivity of the test was also noted;

– analytical sensitivity was determined as 10^3 CFU/ml.

Таблица 7

Селективность, повторяемость и воспроизводимость теста ПЦР-РВ с коммерческим набором ООО «Синтол»*

Table 7

Selectivity, repeatability and reproducibility of the RT-PCR test with a commercial Syntol kit*

		Результаты, Ct Results, Ct									
Растительный экстракт Plant extract		Клубни картофеля Potato tubers				Вер. части картофеля Veg. parts of potato			Розы Roses		
Прибор Device		ДТ-лайт DT-light		АНК-32 ANK-32		ДТ-лайт DT-light		АНК-32 ANK-32		ДТ-лайт DT-light	
Повторность Repetition		1	2	3	1	1	3	2	1	2	3
1		31,0	32,3	31,7	–	32,5	–	–	34,5	34,1	32,9
2		31,8	–	32,2	–	33,7	32,7	36,88	–	34,4	31,5
3		32,2	32,8	32,1	–	33,9	–	–	–	33,9	31,8
4		–	32,9	32,2	–	33,8	32,8	38,1	–	33,6	–
5		–	33,2	32,2	–	33,7	32,8	36,87	34,0	–	33,1
6		31,8	–	32,3	34,24	33,5	32,6	37,63	33,8	34,1	33,5
7		31,8	32,5	32,5	–	33,9	34,3	38,59			
8		–	32,5	–	–	–	32,3	–			
9		31,4	32,6	31,4	–	32,3	31,3	36,46			
10		32,0	33,0	32,2	34,96	33,4	–	35,63			
П R		70%	80%	90%	20%	90%	70%	80%	50%	83%	83%
С, В _{ДТ-лайт} S, Reprod _{DT-light}		80%			х	80%		х	72%		
В		65%				80%			72%		
В _{общая ДТ-лайт} Reprod _{total DT-light}		77%									
В _{общая} Reprod _{total}		71,6%									

* Для опытов использовали коллекционный штамм 0424 *Ralstonia solanacearum* CFBP 3857.

* Collection strain 0424 *Ralstonia solanacearum* CFBP 3857 was used for the experiments.

– критерии тестов в целом не отличались, однако для штамма *R. pseudosolanacearum* CFBP 6424 расы 1 bv. 3 аналитическая чувствительность теста в формате FLASH достигала 10^2 – 10^3 КОЕ/мл, воспроизводимость теста была несколько выше.

2) Для теста на основе ПЦР-РВ с набором ООО «Синтол» в соответствии со спецификацией производителя эндоспецифичность показана для штаммов *R. solanacearum* расы 3 bv. 2. Экзоспецифичность составила 100%. Прочие рабочие критерии были несколько ниже, чем у тестов с наборами ООО «АгроДиагностика»:

– повторяемость и воспроизводимость в пределах аналитической чувствительности (5×10^2 КОЕ/мл), определенные с использованием амплификатора «ДТ-лайт» ООО «ДНК-Технология», составили 50–90% и 77% соответственно. При использовании прибора «АНК-32» также отмечено снижение чувствительности теста;

– аналитическая чувствительность была определена как 10^3 КОЕ/мл.

CONCLUSION

Based on an assessment of the applicability of tests with commercial kits of Russian companies for DNA isolation Proba-GS, for amplification in FLASH format and RT-PCR of AgroDiagnostika and for amplification in RT-PCR format of Syntol for identifying the species of *Ralstonia solanacearum* complex *sensu lato* in plant extracts have been found suitable for routine testing of regulated products. Tests with AgroDiagnostika kits can be used as screening tests for samples of any origin. Test based on RT-PCR with a Syntol kit, specific to *R. solanacearum* race 3 bv. 2, can be used as a screening test in the study of products manufactured in the European Union, as well as for the differential diagnosis of *R. solanacearum* race 3 bv. 2.

Таблица 8

Сводная таблица рабочих критериев тестов на основе ПЦР с флуоресцентной меткой с отечественными коммерческими наборами

Table 8

Summary table of the working criteria of tests based on PCR with a fluorescent label with Russian commercial kits

Тест Test	Рабочие критерии для АЧ 5 x 10 ² КОЕ/мл Working criteria for ASen 5 x 10 ² CFU/ml						
	АЧ, КОЕ/мл ASen, CFU/ml	АС, % AS, %		Селект. Select.	Повтор., % Repet., %	Воспроизв., % Reprod., %	
		Эндо- Endo-	Экзо- Exo-			ДТ-лайт DT-light	Общая Total
FLASH	10 ² –10 ³	100	100	розы ¹ roses ¹	90–100	x	97,5
ПЦР-РВ «АгроДиагностика» RT-PCR AgroDiagnostika	10 ² –10 ³	100	100	розы ¹ roses ¹	(30 ²) 80–100	95	88
ПЦР-РВ «Синтол» RT-PCR Syntol	10 ³	<i>R. solanacearum</i> r. 3 bv. 2	100	розы roses	(20 ²) 50–90	77	71,6

¹ Селективность экстракта роз не оказывала влияния на В, требуется более тщательная подготовка суспензии и очистка ДНК.

² Для прибора «АНК-32».

¹ The selectivity of the rose extract did not affect Reprod; more careful preparation of the suspension and DNA purification are required.

² For ANK-32.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании оценки применимости тесты с коммерческими наборами российских компаний для выделения ДНК «Проба-ГС», для амплификации в формате FLASH и ПЦР-РВ ООО «АгроДиагностика» и для амплификации в формате ПЦР-РВ ООО «Синтол» для выявления видов комплекса *Ralstonia solanacearum sensu lato* в растительных экстрактах признаны пригодными для проведения рутинных исследований подкарантинной продукции. Тесты с наборами производства ООО «АгроДиагностика» могут быть использованы в качестве отборочных для исследования образцов любого происхождения. Тест на основе ПЦР-РВ с набором ООО «Синтол», специфичный к *R. solanacearum* расы 3 bv. 2, может быть использован в качестве отборочного при исследовании продукции, произведенной в Евросоюзе, а также для дифференциальной диагностики *R. solanacearum* расы 3 bv. 2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дренова Н., 2019. Ожог плодовых культур в Российской Федерации и современные подходы к его диагностике. – Плодоводство и ягодоводство России, № 58: 131–137.
2. Дренова Н., Кузнецова А., 2012. Валидация метода FLASH-ПЦР для выявления возбудителя бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. в картофельном экстракте. – ФГБУ «ВНИИР», Быково, 28 с.
3. Ерохова М., 2020. Новая классификация бактерии *Ralstonia solanacearum* – возбудителя бурой гнили картофеля. – Защита и карантин растений, № 12: 6.
4. Завриев С., Рязанцев Д., Кошкина Т., 2007. Эффективный экономический метод чувствительной диагностики и идентификации патогенов

REFERENCES

1. Drenova N. Fire blight in the Russian Federation and current approaches to its diagnostics [Ozhog plodovykh kultur v Rossiyskoy Federatsii i sovremennyye podkhody k yego diagnostike]. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*, 2019; 58: 131–137 (in Russian).
2. Drenova N., Kuznetsova A. Validation of the FLASH-PCR method for detecting the causative agent of brown bacterial rot of potatoes *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. in potato extract [Validatsiya metoda FLASH-PCR dlya vyavleniya vzbuditelya buroy bakterialnoy gnili kartofelya *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. v kartofelnom ekstrakte]. *FGBU "VNIIR", Bykovo*, 2012, 28 p. (in Russian).
3. Yerokhova M. New classification of the bacterium *Ralstonia solanacearum* – the causal agent of potato brown rot [Novaya klassifikatsiya bakterii *Ralstonia solanacearum* – vzbuditelya buroy gnili kartofelya]. *Plant Protection and Quarantine*, 2020; 12: 6 (in Russian).
4. Zavriev S., Ryazantsev D., Koshkina T. An efficient diagnostic method for the identification of potato viral pathogens [Effektivniy ekonomicheskiy metod chuvstvitelnoy diagnostiki i identifikatsii patogenov kartofelya]. *Potato growing in Russia: topical problems of science and practice: materials of the international congress "Potatoes. Russia – 2007"*, M. 2007; 100–103. ISBN 978-5-7367-0643-3 (in Russian).
5. Kornev K., Kopina M. Report on laboratory tests of the "Ralstonia solanacearum-RT" reagent kit to identify the causative agent of potato brown rot *Ralstonia solanacearum* race 3 bv. 2 by real-time polymerase

картофеля. – Картофелеводство России: актуальные проблемы науки и практики: материалы международного конгресса «Картофель. Россия – 2007», М.: 100–103. ISBN 978-5-7367-0643-3.

5. Корнев К., Копина М., 2012. Отчет о проведении лабораторных испытаний набора реагентов «*Ralstonia solanacearum*-PB» для выявления возбудителя бурой гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* раса 3 bv. 2 методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). – Быково, 18 с.

6. Ребриков Д., Саматов Г., Трофимов Д. и др. ПЦР в реальном времени. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009, 223 с. ISBN 978-5-9963-0086-0.

7. Егоров Н. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Учеб. пособие. 3-е изд., перераб. и доп. – М.: МГУ, 1995, 224 с.

8. Стандарт ISO/IEC 17025:2017 «Общие требования к компетенции испытательных и калибровочных лабораторий».

9. СТО ВНИИКР 4.009-2013 «Возбудитель бурой бактериальной гнили картофеля *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Методы выявления и идентификации».

10. Шнейдер Е., Дренова Н., Каримова Е., 2021. Карантинные для Российской Федерации бактериозы видов *Ralstonia*. – Фитосанитария. Карантин растений, 7 (3): 10–26.

11. Buddenhagen I., Sequeira L. & Kelman A., 1962. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. – Phytopathology, 52: 726.

12. EPPO, 2004. PM 7/21 (1): *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic protocols for regulated pests. – EPPO Bulletin, 34: 173–178.

13. EPPO, 2018. PM 7/21 (2): *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* and *R. syzygii* (*Ralstonia solanacearum* species complex). – EPPO Bulletin, 48 (1): 32–63.

14. EPPO, 2019. PM 7/98 (4): Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity. – EPPO Bulletin, 49 (3): 530–563.

15. Fegan M. & Prior P., 2005. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”. In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. – American Phytopathological Society, St Paul, MN (US): 449–461.

16. Horita M., Tsuchiya K., Suga Y., Yano K., Waki T., Kurose D., Furuya N., 2014. Current classification of *Ralstonia solanacearum* and genetic diversity of the strains in Japan. – Journal of general plant pathology, 80 (6): 455–465.

17. Lenarčič R., Morisset D., Pirc M., Llop P., Ravnika M., Dreot T., 2014. Loop-mediated isothermal amplification of specific endoglucanase gene sequence for detection of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. – PLoS ONE, 9 (4), e96027. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096027>.

18. Lin C., Chuang M., Wang J., 2015. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on chard in Taiwan. – Plant Disease, 99 (2): 282.

19. Norman D., Bocsanczy A., Harmon P., Harmon C., Khan A., 2018. First report of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* on blueberries (*Vaccinium corymbosum*) in Florida. – Plant Disease, 102 (2): 438.

20. Safni I., Cleenwerck I., De Vos P., Fegan M., Sly L., Kappler U., 2014. Polyphasic taxonomic revision

chain reaction (RT-PCR) [Otchet o provedenii laboratornykh ispytaniy nabora reagentov «*Ralstonia solanacearum*-RV» dlya vyyavleniya vozbuditelya buroy gnili kartofelya *Ralstonia solanacearum* rasa 3 bv. 2 metodom polimeraznoy tsepnoy reaktsii v real'nom vremeni]. Bykovo, 2012; 18 p. (in Russian).

6. Rebrikov D., Samatov G., Trofimov D. et al. Real time PCR [PCR v realnom vremeni]. M., BINOM, Laboratoriya znaniy, 2009; 223 p. ISBN 978-5-9963-0086-0 (in Russian).

7. Egorov N. Guide to practical training in microbiology: Textbook. 3rd ed., Rev. and additional. M., MSU, 1995; 224 p. (in Russian).

8. Standard ISO/IEC 17025:2017 “General requirements for the competence of testing and calibration laboratories” (in Russian).

9. STO VNIKR 4.009-2013 “The causative agent of brown bacterial rot of potatoes *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Detection and identification methods” (in Russian).

10. Shneyder E., Drenova N., Karimova E. *Ralstonia* spp. bacterioses quarantine for the Russian Federation. *Plant Health and Quarantine*, 2021; 7 (3): 10–26.

11. Buddenhagen I., Sequeira L. & Kelman A. Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology*, 1962; 52: 726.

12. EPPO. PM 7/21 (1): *Ralstonia solanacearum*. Diagnostic protocols for regulated pests. *EPPO Bulletin*, 2004; 34: 173–178.

13. EPPO. PM 7/21 (2): *Ralstonia solanacearum*, *R. pseudosolanacearum* and *R. syzygii* (*Ralstonia solanacearum* species complex). 2018; *EPPO Bulletin*, 48 (1): 32–63.

14. EPPO. PM 7/98 (4): Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity. 2019; *EPPO Bulletin*, 49 (3): 530–563.

15. Fegan M. & Prior P. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex”. In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. American Phytopathological Society, St Paul, MN (US), 2005; 449–461.

16. Horita M., Tsuchiya K., Suga Y., Yano K., Waki T., Kurose D., Furuya N. Current classification of *Ralstonia solanacearum* and genetic diversity of the strains in Japan. *Journal of general plant pathology*, 2014; 80 (6): 455–465.

17. Lenarčič R., Morisset D., Pirc M., Llop P., Ravnika M., Dreot T. Loop-mediated isothermal amplification of specific endoglucanase gene sequence for detection of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *PLoS ONE*, 2014; 9 (4), e96027. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096027>.

18. Lin C., Chuang M., Wang J. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* on chard in Taiwan. *Plant Disease*, 2015; 99 (2): 282.

19. Norman D., Bocsanczy A., Harmon P., Harmon C., Khan A. First report of bacterial wilt disease caused by *Ralstonia solanacearum* on blueberries (*Vaccinium corymbosum*) in Florida. *Plant Disease*, 2018; 102 (2): 438.

20. Safni I., Cleenwerck I., De Vos P., Fegan M., Sly L., Kappler U. Polyphasic taxonomic revision of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to

of the *Ralstonia solanacearum* species complex: proposal to emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. – *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64: 3087–3103. URL: <https://doi.org/10.1099/ijms.0.066712-0>.

21. She X., He Z., Li H., 2018. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum* strains from diverse origins in Guangdong Province, China. – *Journal of Phytopathology*, 166 (3): 177–186.

22. Tjou-Tam-Sin N., van de Bilt J., Westenberg M., Bergsma-Vlami M., Korpershoek H., Vermunt A., Meekes E., Teunissen H., Van Vaerenbergh J., 2017. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in ornamental *Rosa* sp. – *Plant Disease*, 201 (2), 378 p.

23. Wicker E., Grassart L., Coranson-Beaudu R., Mian D., Guilbaud C., Fegan M., Prior P., 2007. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. – *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (21): 6790–801. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.00841-07>.

24. О потенциальных рисках, связанных с ввозом в страну бананов. Официальный сайт Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор). – URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/print/news/16317.html> (дата обращения: 10.09.2021).

25. EPPO Global Database. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 30.09.2021).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Дренова Наталия Васильевна, старший научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-4020-2910, e-mail: drenova@mail.ru.

Игнатьева Ирина Михайловна, научный сотрудник лаборатории бактериологии и анализа ГМО ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@yandex.ru.

Кондратьев Максим Олегович, агроном научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: affut24@rambler.ru.

Шнейдер Елена Юрьевна, старший научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: seunch@mail.ru.

emend the descriptions of *Ralstonia solanacearum* and *Ralstonia syzygii* and reclassify current *R. syzygii* strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *syzygii* subsp. nov., *R. solanacearum* phylotype IV strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *indonesiensis* subsp. nov., banana blood disease bacterium strains as *Ralstonia syzygii* subsp. *celebesensis* subsp. nov. and *R. solanacearum* phylotype I and III strains as *Ralstonia pseudosolanacearum* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2014; 64: 3087–3103. URL: <https://doi.org/10.1099/ijms.0.066712-0>.

21. She X., He Z., Li H. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum* strains from diverse origins in Guangdong Province, China. *Journal of Phytopathology*, 2018; 166 (3): 177–186.

22. Tjou-Tam-Sin N., van de Bilt J., Westenberg M., Bergsma-Vlami M., Korpershoek H., Vermunt A., Meekes E., Teunissen H., Van Vaerenbergh J. First report of bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in ornamental *Rosa* sp. *Plant Disease*, 2017; 201 (2), 378 p.

23. Wicker E., Grassart L., Coranson-Beaudu R., Mian D., Guilbaud C., Fegan M., Prior P. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007; 73 (21): 6790–801. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.00841-07>.

24. About the potential risks associated with the import of bananas into the country. Official website of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoz nadzor). URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/print/news/16317.html> (last accessed: 10.09.2021).

25. EPPO Global Database. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 30.09.2021).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nataliya Drenova, Senior Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-4020-2910, e-mail: drenova@mail.ru.

Irina Ignatieva, Researcher, Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@yandex.ru.

Maksim Kondratiev, Agronomist, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: affut24@rambler.ru.

Elena Shneyder, Senior Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: seunch@mail.ru.

Идентификация некоторых видов личинок мух-пестрокрылок (Insecta: Diptera: Tephritidae), встречающихся в плодах тыквенных растений

М.Ю. АРАПОВА¹, И.О. КАМАЕВ²

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

¹ ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва, Россия

¹ e-mail: maria.yurevna@bk.ru

² ORCID 0000-0003-4251-4862,

e-mail: ilyakamayev@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

Данная работа является практическим руководством по идентификации личинок мух-пестрокрылок видов *Myiopardalis pardalina*, *Bactrocera cucurbitae*, *Bactrocera dorsalis*, *Bactrocera latifrons* и *Dacus* spp., встречающихся в плодах тыквенных растений (Cucurbitaceae). В публикации приведен определительный ключ с иллюстрациями, позволяющий дифференцировать 5 видов личинок III возраста, 3 из которых являются карантинными объектами для стран Евразийского экономического союза.

Ключевые слова. Личинки, пестрокрылки, карантинные объекты, *Bactrocera*, *Dacus*, *Myiopardalis*, Cucurbitaceae.



Мухи-пестрокрылки (Insecta: Diptera: Tephritidae) являются экономически значимыми видами, так как их личинки поражают плоды большого спектра растений-хозяев, включая тыквенные культуры. С последними связаны такие виды, как *Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891), *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett, 1899) и *Bactrocera dorsalis* (Hendel, 1912), включенные в Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза (ЕПКО ЕАЭС, 2016). Ниже приведена краткая информация об имеющих фитосанитарное значение пестрокрылках – вредителях тыквенных.

Identification of some fruit fly larvae species (Insecta: Diptera: Tephritidae) on Cucurbitaceae fruits

M.YU. ARAPOVA¹, I.O. KAMAYEV²

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

¹ M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

¹ e-mail: maria.yurevna@bk.ru

² ORCID 0000-0003-4251-4862,

e-mail: ilyakamayev@yandex.ru

ABSTRACT

This work is a practical guidance for the identification of fruit fly larvae *Myiopardalis pardalina*, *Bactrocera cucurbitae*, *Bactrocera dorsalis*, *Bactrocera latifrons* and *Dacus* spp., occurring on Cucurbitaceae fruits. It contains an identification key with illustrations allowing to differentiate third instar larvae of 5 species, 3 of which are quarantine objects (pests) for the Eurasian Economic Union.

Key words. Larvae, fruit fly, quarantine objects, *Bactrocera*, *Dacus*, *Myiopardalis*, Cucurbitaceae.

Fruit flies (Insecta: Diptera: Tephritidae) are economically important species, as their larvae cause damage to a wide range of host plants, including Cucurbitaceae. The latter are related with such species as *Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891), *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett, 1899) and *Bactrocera dorsalis* (Hendel, 1912), included in the Common List of Quarantine Objects of the Eurasian Economic Union (CLQO EAEU, 2016). Brief information concerning fruit flies of phytosanitary importance affecting Cucurbitaceae is given below.

Дынная муха *Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891)

Во многих публикациях (Кандыбина, 1977; Korneyev et al., 2017; Carroll et al., 2019) *Myiopardalis* принимается в ранге подрода рода *Carpomyia*.

Дынная муха является олигофагом, спектр растений-хозяев ограничен представителями семейства Тыквенные, главным образом дыней (*Cucumis melo*), также повреждает арбузы (*Citrullus lanatus*) и огурцы (*Cucumis sativus*) (CABI, 2021; EPPO, 2021).

Этот вредитель был первоначально описан в Белуджистане, регионе, простирающемся от юго-восточного Ирана до западного Пакистана. На данный момент *M. pardalina* распространен в некоторых странах Азии (Кандыбина, 1977; EPPO, 2021) и Европы (Korneyev et al., 2017).

Африканская дынная муха *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett, 1899)

– *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae*: Drew et Romig, 2013; Drew et Romig, 2016; Drew et Hancock, 2016.

– *Zeugodacus cucurbitae*: De Meyer et al., 2015; Virgilio et al., 2015.

Личинки *B. cucurbitae* повреждают более 125 видов растений, преимущественно из семейства Cucurbitaceae, например дыню (*Cucumis melo*), тыкву (*Cucurbita pepo*), арбуз (*Citrullus lanatus*), огурец (*Cucumis sativus*) и др. (EPPO, 2021; CABI, 2021).

Африканская дынная муха распространена в странах Азии и в тропических и субтропических областях Африки, в Австралии (Квинсленд) и на Гавайях (EPPO, 2021; CABI, 2021).

Восточная фруктовая муха *Bactrocera dorsalis* (Hendel, 1912)

B. dorsalis является частью комплекса морфологически сходных видов, включающего в себя около 85 видов (Vargas et al., 2015).

Восточная фруктовая муха – один из наиболее многоядных видов плодовых мух, в качестве растений-хозяев *B. dorsalis* зарегистрировано около 450 видов растений, принадлежащих к 80 семействам, в том числе тыквенные культуры, например дыни (*Cucumis melo*), арбузы (*Citrullus lanatus*), огурцы (*Cucumis sativus*), тыквы (*Cucurbita pepo*) и др. (EPPO, 2021).

B. dorsalis обладает высокой инвазионной активностью и в настоящее время распространен по меньшей мере в 65 странах Азии и Африки (Воробьева, Камаев, 2017; EPPO, 2021). В Африке вид впервые был обнаружен в 2003 г. в Кении, впоследствии он распространился по всему континенту южнее Сахары (De Villiers et al., 2016), а также по нескольким островам в западной части Индийского океана (EPPO, 2021).

Следующие виды Tephritidae, повреждающие плоды Cucurbitaceae, по результатам анализов фитосанитарного риска (АФР), проведенных специалистами ФГБУ «ВНИИКР», определены в качестве потенциальных карантинных объектов.

Пасленовая плодовая муха *Bactrocera latifrons* (Hendel, 1915)

Является в основном вредителем пасленовых культур (томатов, стручкового перца, баклажанов и др.), но также может поражать некоторые виды семейства Cucurbitaceae (огурцы, арбузы и др.) (EPPO, 2021).

B. latifrons – азиатский вид, был завезен в США (на Гавайи) и в некоторые страны Африки (EPPO, 2021).

Baluchistan melon fly *Myiopardalis pardalina* (Bigot, 1891)

In many works (Kandybina, 1977; Korneyev et al., 2017; Carroll et al., 2019) *Myiopardalis* is accepted as a subgenus of the genus *Carpomyia*.

Melon fruit fly is an oligophage, the range of host plants is limited to representatives of the Cucurbitaceae family, mainly melons (*Cucumis melo*), they also damage watermelons (*Citrullus lanatus*) and cucumbers (*Cucumis sativus*) (CABI, 2021; EPPO, 2021).

This pest was originally described in Balochistan, a region from southeastern Iran to western Pakistan. At present, *M. pardalina* is spread in some Asian countries (Kandybina, 1977; EPPO, 2021) and Europe (Korneyev et al., 2017).

Melon fruit fly *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett, 1899)

– *Bactrocera* (*Zeugodacus*) *cucurbitae*: Drew et Romig, 2013; Drew et Romig, 2016; Drew et Hancock, 2016.

– *Zeugodacus cucurbitae*: De Meyer et al., 2015; Virgilio et al., 2015.

B. cucurbitae larvae damage over 125 plant species, mainly Cucurbitaceae, e. g., melons (*Cucumis melo*), pumpkins (*Cucurbita pepo*), watermelons (*Citrullus lanatus*), cucumbers (*Cucumis sativus*), etc. (EPPO, 2021; CABI, 2021).

Melon fruit fly is spread in Asia and in tropical and subtropical regions of Africa, in Australia (Queensland) and Hawaii (EPPO, 2021; CABI, 2021).

Oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Hendel, 1912)

B. dorsalis is part of a complex of morphologically similar species, which includes about 85 species (Vargas et al., 2015).

Oriental fruit fly is one of the most polyphagous fruit fly species, the host plants of *B. dorsalis* have a record of 450 species belonging to 80 families, including Cucurbitaceae, such as melons (*Cucumis melo*), watermelons (*Citrullus lanatus*), cucumbers (*Cucumis sativus*), pumpkins (*Cucurbita pepo*), etc. (EPPO, 2021).

B. dorsalis has a high invasive activity and is currently spread in at least 65 countries of Asia and Africa (Vorobiova, Kamayev, 2017; EPPO, 2021). In Africa, the species was first reported in 2003 in Kenya, subsequently it spread throughout the continent south of the Sahara (De Villiers et al., 2016), as well as several islands in the western Indian Ocean (EPPO, 2021).

The following Tephritidae species damaging Cucurbitaceae fruits have been identified as potential quarantine objects based on the results of pest risk analysis (PRA) conducted by specialists of All-Russian Plant Quarantine Center.

Solanum fruit fly *Bactrocera latifrons* (Hendel, 1915)

It is mainly a pest of Solanum crops (tomatoes, capsicums, eggplants, etc.), but can also infect some species of the Cucurbitaceae family (cucumbers, watermelons, etc.) (EPPO, 2021).

B. latifrons is an Asian species, was introduced to the USA (to Hawaii) and to some African countries (EPPO, 2021).

Малая тыквенная муха *Dacus ciliatus* Loew, 1862

Это очень изменчивый вид, который легко спутать с *Dacus frontalis* Becker, 1922 и *Dacus vertebratus* Bezzi, 1908 (White, 2006; Carroll et al., 2019).

Личинки *D. ciliatus* развиваются в плодах большого спектра тыквенных культур (арбузы, дыни, тыквы, момордика и др.). Есть указания о растениях-хозяевах из других семейств, но они не являются типичными для малой тыквенной мухи (CABI, 2021; EPPO, 2021).

D. ciliatus широко распространен во многих странах Африки и некоторых странах Азии (EPPO, 2021).

В данной работе приведен иллюстрированный определительный ключ, позволяющий дифференцировать вышеперечисленные виды личинок мух-тефритид (кроме *D. ciliatus*), встречающиеся в плодах тыквенных растений.

Общие сведения о морфологии личинок

Личинки плодовых мух относятся к мускоидному типу и характеризуются удлинённым телом конической формы (часто вторая его половина цилиндрическая), каудально с расширенным основанием. Окраска взрослых личинок беловато-желтая, покровы тела несклеротизированные, полупрозрачные. Головная капсула редуцирована, первый сегмент тела называется *псевдоцефалон*, или *ложноголова*. На вентральной стороне ложноголовы расположено ротовое отверстие, из которого могут выступать темно-коричневые *ротовые крючки* (апикальные зубы, или терминальная часть мандибулярных склеритов). С обеих сторон ротового отверстия, у основания *ротовых сенсилл* (прозрачных несклеротизированных бугорков, с воронковидным углублением, расположенных у вершины ротового отверстия) иногда развиты часто темно-окрашенные пальцеобразные выросты, или *предротовые зубы* (рис. 1). Их наличие и количество являются важными диагностическими признаками. По бокам ротового отверстия находятся ротовые лопасти с расходящимися *ротовыми бороздками*, их форма имеет диагностическое значение (Кандыбина, 1977).

Ротоглоточный аппарат – система внутренних склеритов, располагается в полости ложноголовы и первых двух грудных сегментов. Важное диагностическое значение имеет строение *мандибулярных склеритов*, или *ротовых крючков*, – вертикально поставленных склеритов неправильной треугольной формы, с серповидно изогнутым апикальным зубцом и расширенным основанием с оттянутым дорсо-каудальным участком (рис. 2). У некоторых видов на внутренней поверхности мандибулярного склерита может присутствовать *предвершинный (преапикальный) зубец*. У вентрального выступа (аподемы) ротовых крючков у некоторых видов располагаются небольшие склериты, называемые *зубными* (Кандыбина, 1977).

На первом грудном сегменте, почти на границе со вторым, располагаются передние дыхальца. Количество и расположение их лопастей используются в качестве диагностического признака (рис. 3).

Более подробное описание морфологического строения личинок мух-пестрокрылок приведено в монографии М.Н. Кандыбиной (1977).

Lesser pumpkin fly *Dacus ciliatus* Loew, 1862

This is a highly variable species that is easily confused with *Dacus frontalis* Becker, 1922 and *Dacus vertebratus* Bezzi, 1908 (White, 2006; Carroll et al., 2019).

D. ciliatus larvae develop in a wide range of Cucurbitaceae fruits (watermelons, melons, pumpkins, momordica, etc.). There are indications of host plants from other families, but they are not typical for the lesser pumpkin fly (CABI, 2021; EPPO, 2021).

D. ciliatus is widely spread in many African countries and some Asian countries (EPPO, 2021).

The present work provides an illustrated identification key allowing to differentiate the above-stated Tephritidae fly larvae species (except for *D. ciliatus*) occurring in Cucurbitaceae fruits.

General information about the morphology of larvae

Fruit fly larvae are of the muscoid type and are characterized by an elongated conical body (often its second half is cylindrical), caudally with an expanded base. The color of adult larvae is whitish-yellow, the integument of the body is not sclerotized, translucent. The head capsule is reduced, the first segment of the body is called *pseudocephalon*. On the ventral side of the pseudocephalon there is a mouth opening from which dark brown *oral hooks* (apical teeth, or terminal part of mandibular sclerites). On both sides of the mouth opening, at the base of *oral sensilla* (transparent non-sclerotized tubercles, with a funnel-shaped depression, located at the top of the mouth opening), often dark-colored finger-shaped outgrowths are sometimes developed, or *preoral teeth* (Fig. 1). Their presence and quantity are important diagnostic features. On the sides of the oral

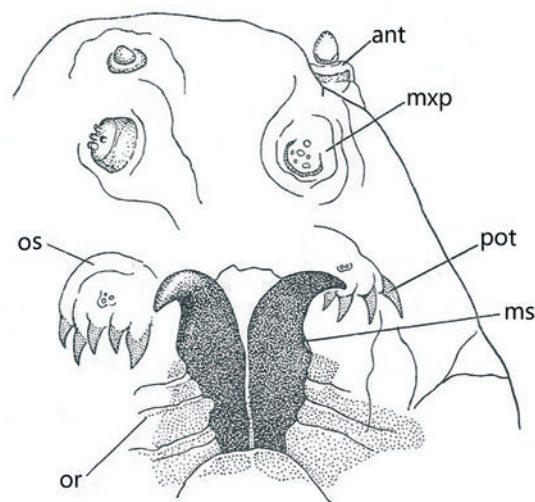


Рис. 1. Головной сегмент (лицевая маска) личинки (из: Кандыбина, 1977, с изм.).

Обозначения: ant – усик, mxp – щупик, os – ротовая сенсилла, or – ротовые бороздки, pot – предротовые зубы, ms – мандибулярный склерит.

Fig. 1. The head segment (facial mask) of the fruit fly larva (from: Kandybina, 1977, modified).

Symbols: ant – antenna, mxp – maxillary palpus, os – oral sensilla, or – oral ridges, pot – preoral teeth, ms – mandibular sclerite.

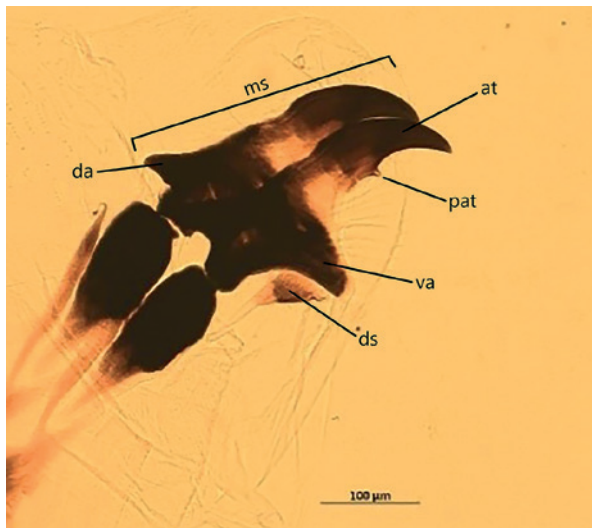


Рис. 2. Фрагмент ротоглоточного аппарата *Bactrocera cucurbitae* (фото И.О. Камаева).
Обозначения:
ms – мандибулярный склерит,
ds – зубной склерит,
at – апикальный зубец,
pat – предвершинный, или преапикальный, зубец,
va – вентральная аподема,
da – дорсальная аподема.

Fig. 2. Fragment of the cephalopharyngeal skeleton of *Bactrocera cucurbitae* (photo by I.O. Kamayev).
Symbols:
ms – mandibular sclerite,
ds – dental sclerite,
at – apical tooth,
pat – preapical tooth,
va – ventral apodeme,
da – dorsal apodeme.

Ключевые диагностические признаки личинок рассмотренных выше видов мух семейства Tephritidae, повреждающих плоды тыквенных растений, представлены в таблице. Данные признаки использованы при составлении определительного ключа.

Идентификация проводится только по личинкам III возраста, характеризующимся наличием передних дыхалец и трех щелей на задних дыхальцах (Кандыбина, 1977).

Таблица

Диагностические признаки личинок III возраста некоторых мух-пестрокрылок, встречающихся в плодах Cucurbitaceae

Вид	Признаки			
	Наличие зубного склерита	Ротовые борозды (форма)	Предвершинный зубец на мандибулярном склерите	Количество лопастей на передних дыхальцах
<i>Bactrocera latifrons</i>	есть	простые	отсутствует	13–18
<i>Bactrocera dorsalis</i>	есть	простые	отсутствует	8–12
<i>Bactrocera cucurbitae</i>	есть	глубокие, с заворачивающимися краями	есть, небольшой	16–20
<i>Dacus ciliatus</i>	есть	глубокие, с заворачивающимися краями	есть, довольно крупный	14–16
<i>Myiopardalis pardalina</i>	нет	простые	отсутствует	25–28

Примечание. Таблица составлена по (Кандыбина, 1977; Камаев, 2017; Balmès et Mouttet, 2017; Carroll et al., 2019; White et Elson-Harris, 1992).



Рис. 3. Переднее дыхальце *Myiopardalis pardalina*, темнопольная микроскопия (фото И.О. Камаева)

Fig. 3. Anterior spiracle of *Myiopardalis pardalina*, dark-field microscopy (photo by I.O. Kamayev)

opening are *oral ridges* with diverging oral grooves, their shape is of diagnostic value (Kandybina, 1977).

Cephalopharyngeal skeleton is a system of internal sclerites, located in the cavity of the pseudocephalon and the first two thoracic segments. A great diagnostic value has the structure of *mandibular sclerite*, or *oral hooks*, – vertically placed sclerites of irregularly triangular shape, with a crescent-shaped apical tooth and an expanded base with a retracted dorso-caudal area (Fig. 2). In some species, a *preapical tooth* may be present on the inner surface of the mandibular sclerite. At the ventral apodeme of the oral hooks in some species there are small sclerites called *dental* (Kandybina, 1977).

On the first thoracic segment, almost on the border with the second, there are anterior spiracles. The number and location of their tubules are used as a diagnostic feature (Fig. 3).

Table
Diagnostic characters of third instar larvae of some fruit flies
recorded on Cucurbitaceae fruits

Species	Characters			
	Presence of dental sclerite	Oral ridges (form)	Preapical tooth on mandibular sclerite	Number of tubulestubbles on anterior spiracles
<i>Bactrocera latifrons</i>	present	simple	absent	13–18
<i>Bactrocera dorsalis</i>	present	simple	absent	8–12
<i>Bactrocera cucurbitae</i>	present	deep, with curling edges	present, small	16–20
<i>Dacus ciliatus</i>	present	deep, with curling edges	present, quite large	14–16
<i>Myiopardalis pardalina</i>	absent	simple	absent	25–28

Note. The table was compiled according to (Kandybina, 1977; Kamayev, 2017; Balmès et Mouttet, 2017; Carroll et al., 2019; White et Elson-Harris, 1992).



Рис. 4. Форма задних дыхалец личинок некоторых семейств Diptera: Tephritidae (a), Muscidae (b), Calliphoridae (c) (фото И.О. Камаева)

Fig. 4. Shape of posterior spiracles in larvae of some Diptera families: Tephritidae (a), Muscidae (b), Calliphoridae (c) (photo by I.O. Kamayev)

Для идентификации личинок необходимо изготовление микропрепарата. Методика его приготовления подробно описана в следующих источниках: ISPM 27: DP09 (2015), Камаев (2017), а также видеоролик проекта ФГБУ «ВНИИКР» («Онлайн-практика карантина растений»).

Для данной работы был использован материал из коллекций энтомологического фонда ФГБУ «ВНИИКР» и Зоологического института РАН, г. Санкт-Петербург, Россия (ЗИН РАН).

Определительный ключ
для идентификации личинок III возраста
до семейства Tephritidae (по Кандыбиной, 1977; Камаеву, 2017)

1 Головная капсула сильно редуцирована. Если имеются склеротизированные ротовые части, то они представлены в виде крючков. Ног нет 2

– Признаки иные другие группы

2 Передние дыхальца не сближены, располагаются по бокам тела. Задние дыхальца находятся не на выступах (стигмофорах) и не имеют перитремы, содержат 3 вытянутые щели, которые обычно почти параллельны, между ними заметны интерспиракулярные отростки (рис. 4a) **Tephritidae**

– Признаки иные (рис. 4b, 4c) другие семейства

A more detailed description of the morphological structure of the fruit fly larvae is given in the monograph by M.N. Kandybina (1977).

The key diagnostic characters of the above-stated Tephritidae larvae damaging Cucurbitaceae fruits are presented in the table. These characters were used in the compilation of the identification key.

Identification is carried out only by third instar larvae characterized by the presence of anterior spiracles and three slits on the posterior spiracles (Kandybina, 1977).

To identify the larvae, it is necessary to make a slide. The method of its preparation is described in detail in the following sources: ISPM 27: DP09 (2015), Kamayev (2017), as well as a video of the FGBU “VNIICR” project (“Online Practice of Plant Quarantine”).

This work includes the material from the collections of the entomological fund of the Federal State Budgetary Institution “VNIICR” and the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia (ZIN RAS).

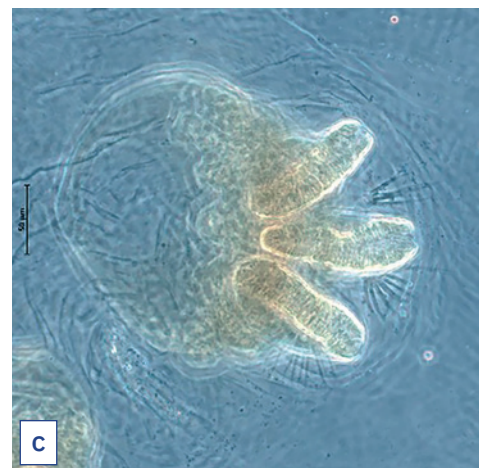
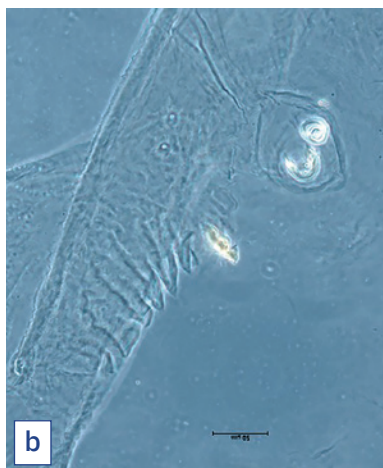
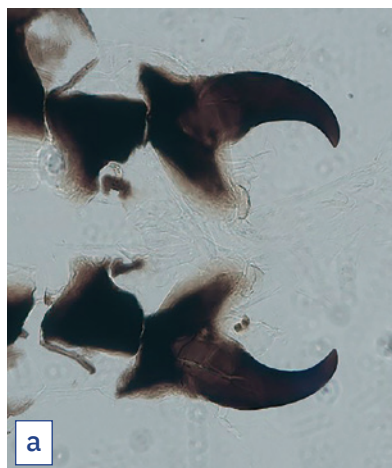


Рис. 5. Часть ротоглоточного аппарата (a), фрагмент лицевой маски (b) и заднее дыхальце (c) *Myiopardalis pardalina*, (a) – светлопольная микроскопия, (b, c) – фазовый контраст (фото И.О. Камаева)

Fig. 5. Part of the cephalopharyngeal skeleton (a), a fragment of the facial mask (b) and the posterior spiracle (c) *Myiopardalis pardalina*, (a) – bright-field microscopy, (b, c) – phase contrast (photo by I.O. Kamayev)

Определительный ключ

для идентификации до вида личинок некоторых мух-пестрокрылок, встречающихся в плодах тыквенных растений (по Кандыбиной, 1977; Камаеву, 2017; Carroll et al., 2019; White et Elson-Harris, 1992; Balmès et Mouttet, 2017; с дополнениями и изменениями)

- 1 Зубной склерит имеется (рис. 2) 4
– Зубной склерит отсутствует (рис. 5a) 2
- 2 Предротовые зубцы развиты (рис. 1, 5b). Лопастей переднего дыхальца больше семи. Ротовые бороздки с рядом мелких зубцов вдоль наружного края 3
– Такого сочетания признаков нет другие роды и виды
- 3 Передние дыхальца с 25–28 лопастями (рис. 3) *Myiopardalis pardalina*

Примечание. Часть ротоглоточного аппарата, фрагмент лицевой маски и заднее дыхальце данного вида представлены на рис. 5.

– Количество лопастей передних дыхалец менее 24 другие виды *Carpomyia*

4 Ротовые бороздки с закручивающимися краями, образующими почти каналы (рис. 6), предвершинный зубец на мандибулярном склерите имеется (рис. 2) 5

– Ротовые бороздки с простыми (незакручивающимися) краями. Предвершинный зубец на мандибулярном склерите имеется или отсутствует ... 6

5 Предвершинный зубец на мандибулярном склерите не крупный (рис. 7a, 7b). Передние дыхальца с 18–20 лопастями (рис. 7c). На последнем сегменте тела под дыхальцами между бугорками расположена тонкая, темная полоса (рис. 7d) *Bactrocera cucurbitae*

Примечание. Некоторые авторы (Hardy, 1949; Кандыбина, 1977) упоминают о наличии темной горизонтальной склеротизированной полоски на последнем сегменте тела личинки III возраста *Bactrocera cucurbitae*. Вслед за White et Elson-Harris (1992) мы придерживаемся мнения, что данная полоска является темноокрашенной, но не склеротизированной, так как на практике наличие этой полосы отмечается у недавно зафиксированных личинок. На более старом материале данный признак не обнаружен.

К этому виду достаточно близок австралийский вид *Bactrocera cucumis* (French, 1907), встречающийся в плодах

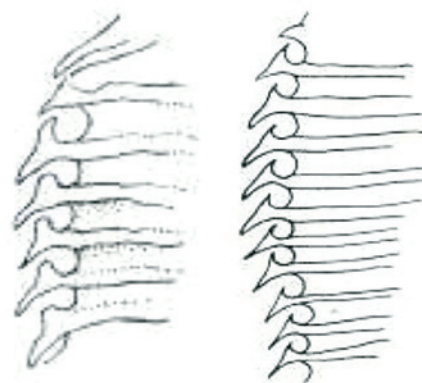


Рис. 6. Ротовые бороздки с закручивающимися краями (из: Кандыбина, 1977)

Fig. 6. Oral ridges with curling edges (from: Kandybina, 1977)

Identification key to third instar larvae up to

the family Tephritidae (according to Kandybina, 1977; Kamayev, 2017)

1 The head capsule is strongly reduced. If there are sclerotized mouthparts, they are presented in the form of hooks. No legs 2

– Other characters other groups

2 The anterior spiracles are not close together, located on the sides of the body. The posterior spiracles are not on projections (stigmophores) and do not have a peritreme, contain 3 elongated slits, which are usually almost parallel, interspiracular processes are visible between them (Fig. 4a) **Tephritidae**

– Other characters (Fig. 4b, 4c) other families

Identification key to the species of some fruit fly larvae occurring on Cucurbitaceae fruits (based on Kandybina, 1977; Kamayev, 2017; Carroll et al., 2019; White et Elson-Harris, 1992; Balmès et Mouttet, 2017; with additions and changes)

1 Dental sclerite present (Fig. 2) 4

– Dental sclerite absent (Fig. 5a) 2

тыквенных, у которого, как правило, не развита темноокрашенная полоска на последнем сегменте тела под дыхальцами (White et Elson-Harris, 1992).

Диагностический признак (темноокрашенная полоска), используемый для дифференциации *B. cucurbitae* и *B. cicutis*, приводится только в работе White et Elson-Harris (1992), в других известных нам работах по личинкам плодовых мух одновременно оба этих вида в определительных таблицах не представлены. Как отмечают сами авторы (White et Elson-Harris, 1992), указанный признак не является стабильным у *B. cicutis*; по нашим данным, этот признак, возможно, также не является стабильным у *B. cucurbitae* (рис. 7d, 7e).

– Предвершинный зубец на мандибулярном склерите очень крупный, равен не менее чем половине длины вершинного зубца (рис. 8a) ... ***Dacus spp.***

Примечание. Известные виды данного рода на личиночной стадии развиваются преимущественно в плодах тыквенных, однако их диагностика недостаточно разработана. Наиболее часто встречается *Dacus ciliatus*, у личинок которого на передних дыхальцах 14–16 лопастей (рис. 8b), а предвершинный зубец равен половине длины вершинного (Кандыбина, 1977; White et Elson-Harris, 1992); но следует иметь в виду, что данные признаки не являются видоспецифичными (Carroll et al., 2019).

6 Предвершинный зубец на мандибулярном склерите отсутствует (рис. 9–10) 7
– Предвершинный зубец на мандибулярном склерите имеется другие виды
7 Количество лопастей передних дыхалец – 13 и более 8
– Количество лопастей передних дыхалец – менее 13 9

2 Preoral teeth developed (Fig. 1, 5b). Tubules of anterior spiracle more than seven. Oral ridges with a number of small teeth along the outer edge 3
– No such characters combination other genera and species

3 Anterior spiracles with 25–28 tubules (Fig. 3)
..... ***Myiopardalis pardalina***

Note. A part of the cephalopharyngeal skeleton, a fragment of the facial mask, and the posterior spiracle of this species are shown in Fig. 5.

– Number of tubules of anterior spiracles less than 24 other ***Carpomyia*** species

4 Oral ridges with curling edges forming almost canals (Fig. 6); preapical tooth present on mandibular sclerite (Fig. 2) 5
– Oral ridges with simple (non-curling) edges. Preapical tooth on mandibular sclerite present or absent 6

5 Preapical tooth on mandibular sclerite not large (Figs. 7a, 7b). Anterior spiracles with 18–20 tubules (Fig. 7c). On the last segment of the body, under the spiracles between the tubercles, there is a thin, dark stripe (Fig. 7d) ***Bactrocera cucurbitae***

Note. Some authors (Hardy, 1949; Kandybina, 1977) mention the presence of a dark horizontal sclerotized stripe on the last segment of the body of a third instar *Bactrocera cucurbitae* larva. Following White et Elson-Harris (1992), we share the opinion that this band is dark-colored but not sclerotized, since in practice the presence of this band is observed in recently recorded larvae. This character was not found on older material.

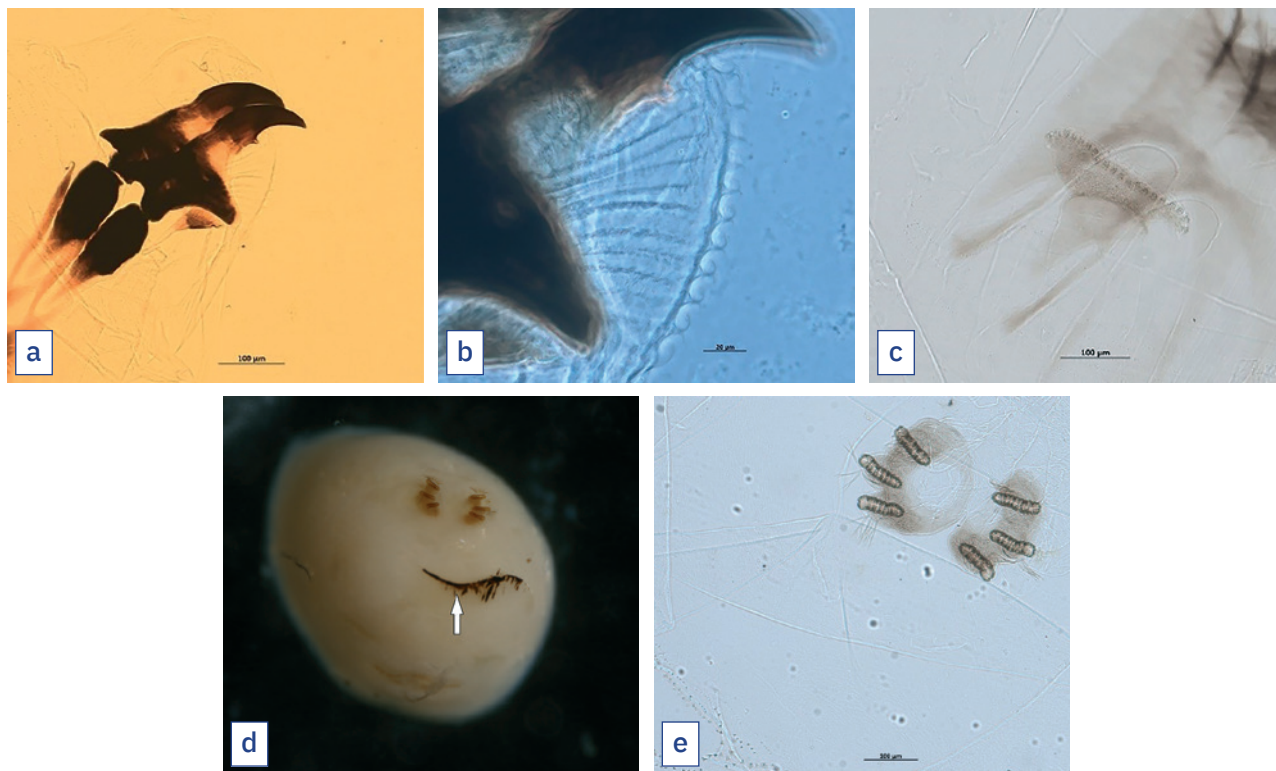


Рис. 7. Часть ротоглоточного аппарата (а), закручивающиеся бороздки (б), переднее дыхальце (с) и последний сегмент тела личинки с темноокрашенной полоской (на нее указывает стрелка) (д) и без темноокрашенной полоски (е) *Bactrocera cucurbitae* (фото И.О. Камаева)

Fig. 7. Part of the cephalopharyngeal skeleton (a), curling ridges (b), anterior spiracle (c) and the last segment of the body of the larva with a dark-colored stripe (indicated by an arrow) (d) and without a dark-colored stripe (e) *Bactrocera cucurbitae* (photo by I.O. Kamayev)

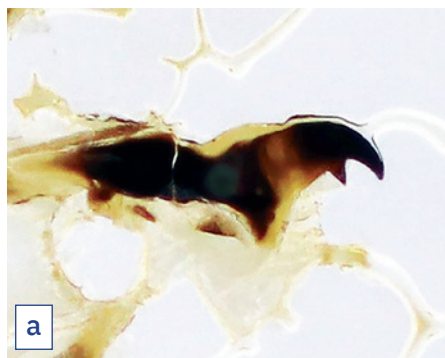


Рис. 8. Часть ротоглоточного аппарата (а) и переднее дыхальце (b) *Dacus ciliatus* (фото М.Ю. Араповой)

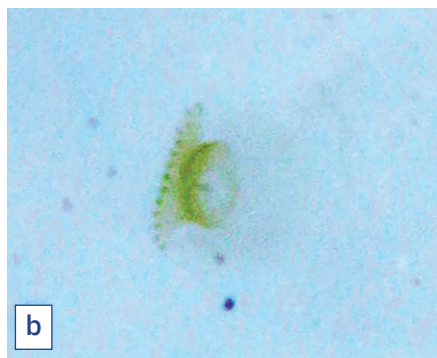


Fig. 8. Part of the cephalopharyngeal skeleton (a) and anterior spiracle (b) *Dacus ciliatus* (photo by M.Yu. Arapova)

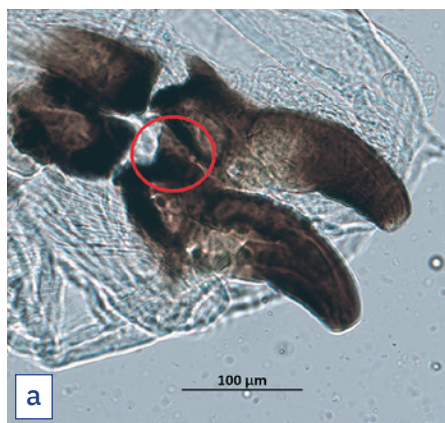


Рис. 9. Часть ротоглоточного аппарата (а) и переднее дыхальце (b) *Bactrocera latifrons* (фото И.О. Камаева)

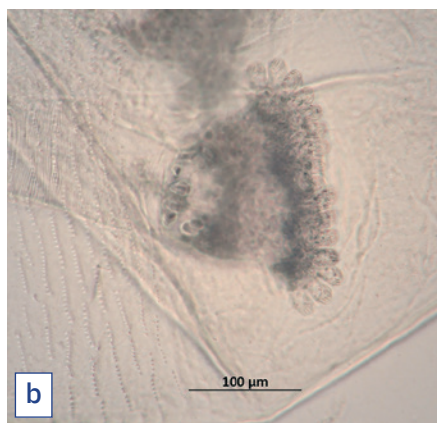


Fig. 9. Part of the cephalopharyngeal skeleton (a) and anterior spiracle (b) *Bactrocera latifrons* (photo by I.O. Kamayev)

8 Шейка мандибулярного склерита не выражена; дорсальная аподема широкая, в виде массивного зубца, расположена под явным углом к основанию склерита; вентральная аподема направлена к внутреннему (вентральному) вогнутому краю склерита; вершинный зубец относительно массивный, не явно вогнутый, в результате этого вентральный (внутренний) край склерита кажется неглубоким (рис. 9а). Количество лопастей передних дыхалец – 13–18 (рис. 9б) *Bactrocera latifrons*

– Хорошо выражена шейка мандибулярного склерита (рис. 10); дорсальная аподема мандибулярного склерита узкая, прилегающая к основанию склерита, апикально заострена; вентральная аподема направлена от внутреннего вогнутого края склерита; вершинный зубец узкий, не массивный, явно вогнутый, в результате этого вентральный (внутренний) край склерита кажется глубоким *Bactrocera zonata*

Примечание. По результатам анализа фитосанитарного риска, проведенного специалистами ФГБУ «ВНИИКР» в отношении *Bactrocera zonata* (Saunders, 1842), показано, что данный вид не соответствует критериям карантинного объекта для территории Российской Федерации. Здесь этот вид приведен для дифференциации от сходного по ряду признаков *B. latifrons*, так как *B. zonata* может повреждать некоторые тыквенные (например, момордику, лагенарию). В работе Кандыбиной (1977) *B. latifrons* отсутствует. В определительном ключе Balmès et Mouttet (2017) оба вида представлены, но основной акцент сделан на растения-хозяева и количество лопастей на передних дыхальцах, что может привести к некорректной идентификации.

The Australian species *Bactrocera cucumis* (French, 1907) is quite close to this species, occurring on Cucurbitaceae fruits, in which, as a rule, a dark-colored stripe is not developed on the last segment of the body under the spiracles (White et Elson-Harris, 1992).

Diagnostic character (dark colored line) used for differentiation of *B. cucurbitae* and *B. cucumis*, is given only in the work of White et Elson-Harris (1992), in other works known to us on fruit fly larvae, both of these species are not simultaneously presented in the key tables. As noted by the authors themselves (White et Elson-Harris, 1992), this character is not stable in *B. cucumis*; according to our data, this character may also not be stable in *B. cucurbitae* (Fig. 7d, 7e).

– Preapical tooth on mandibular sclerite very large, at least half as long as apical tooth (Fig. 8a) *Dacus spp.*

Note. Known species of this genus at the larval stage develop mainly in pumpkin fruits, but their diagnosis is not well developed. Most common is *Dacus ciliatus*, the larvae of which have 14–16 tubules on the anterior spiracles (Fig. 8b), and the preapical tooth is half the length of the apical one (Kandybina, 1977; White et Elson-Harris, 1992); but it should be borne in mind that these characters are not species-specific (Carroll et al., 2019).

6 The preapical tooth on the mandibular sclerite is absent (Fig. 9–10) 7

– Preapical tooth on man-

dibular sclerite present

..... other species

7 The number of tubules of the anterior spiracles is 13 or more..... 8



Рис. 10. Часть ротоглоточного аппарата *Bactrocera zonata*; стрелки указывают на шейку мандибулярного склерита (из: Balmès et Mouttet, 2017, с изм.)

Fig. 10. Part of the cephalopharyngeal skeleton of *Bactrocera zonata*; arrows point to the neck of the mandibular sclerite (from: Balmès et Mouttet, 2017, modified)

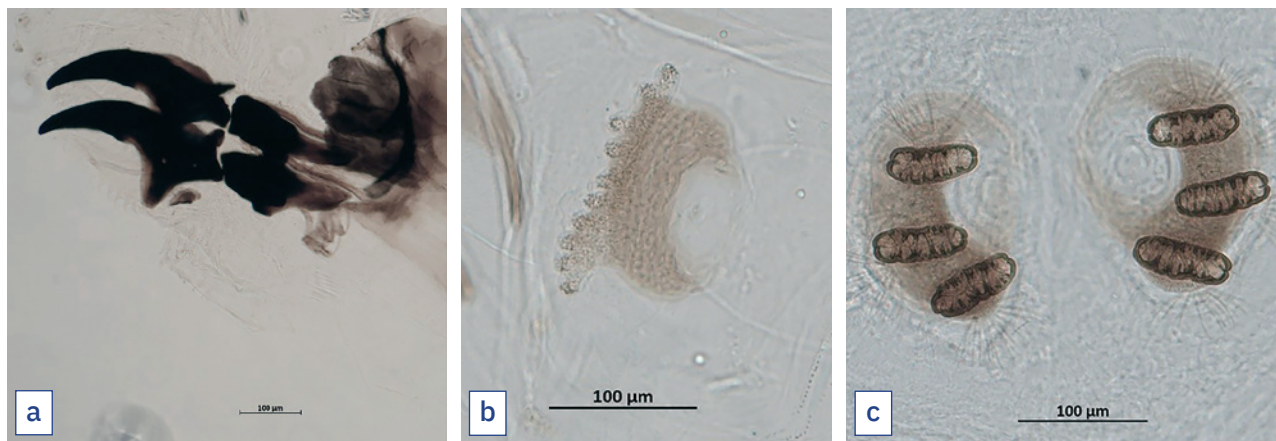


Рис. 11. Фрагмент ротоглоточного аппарата (а), переднее (б) и задние (с) дыхальца *Bactrocera dorsalis* (фото И.О. Камаева)

Fig. 11. Fragment of the cephalopharyngeal skeleton (a), anterior (b) and posterior (c) spiracles *Bactrocera dorsalis* (photo by I.O. Kamayev)

9 Длина интерспиракулярных отростков явно более $\frac{1}{2}$ длины нижней щели заднего дыхальца или приблизительно равна ей (рис. 11с, 12а). Шейка мандибулярного склерита явно выражена (рис. 11а)

..... *Bactrocera dorsalis*

– Длина интерспиракулярных отростков приблизительно равна половине длины нижней щели заднего дыхальца или менее ее (рис. 12б). Шейка мандибулярного склерита выражена или отсутствует другие виды

Благодарность. Авторы выражают благодарность специалистам ФГБУ «ВНИИКР»: Н.И. Ершовой, С.Ю. Муханову и Д.Г. Касаткину, а также специалистам Зоологического института РАН О.Г. Овчинниковой и Г.М. Сулеймановой за материал, любезно предоставленный для исследования и фотографирования.

Работа частично выполнена в рамках НИР по государственному заданию (НИОКТР № 5121042600339-5).

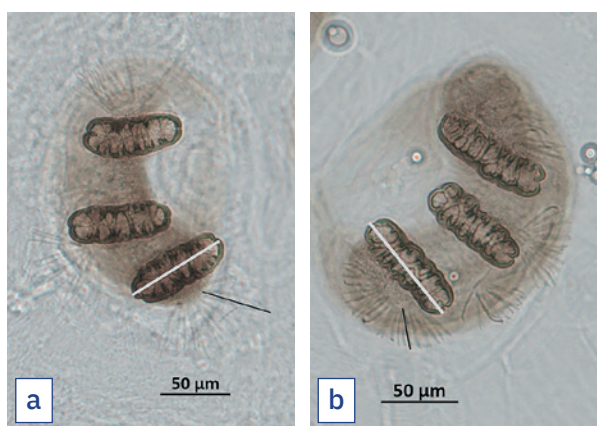


Рис. 12. Задние дыхальца *Bactrocera dorsalis* (а) и *Ceratitidis capitata* (б), белая линия показывает длину щели заднего дыхальца, черная линия – длину интерспиракулярных отростков (фото И.О. Камаева)

Fig. 12. Posterior spiracles of *Bactrocera dorsalis* (а) and *Ceratitidis capitata* (б). The white line shows the length of the posterior spiracle slit, the black line shows the length of the interspiracular processes (photo by I.O. Kamayev)

– The number of tubules of the anterior spiracles is less than 13.....9

8 The neck of the mandibular scleritis is not pronounced; dorsal apodeme wide, in the form of a massive tooth, located at a clear angle to the base of the sclerite; ventral apodeme directed towards inner (ventral) concave margin of sclerite; apical tooth relatively massive, not distinctly concave; as a result, ventral (inner) margin of sclerite appears shallow (Fig. 9a). The number of tubules of the anterior spiracles is 13–18 (Fig. 9b) *Bactrocera latifrons*

– The neck of the mandibular sclerite is well expressed (Fig. 10); dorsal apodeme of mandibular sclerite narrow, adjacent to base of sclerite, apically pointed; ventral apodeme directed from inner concave margin of sclerite; apical tooth narrow, not massive, distinctly concave, as a result of which the ventral (inner) margin of the sclerite appears deep *Bactrocera zonata*

Note. According to the results of the pest risk analysis of *Bactrocera zonata* (Saunders, 1842) conducted by the specialists of the All-Russian Plant Quarantine Center, it is shown that this species does not conform the criteria of a quarantine object (pest) for the territory of the Russian Federation. Here, this species is given to differentiate from the similar in a number of characters *B. latifrons*, as *B. zonata* can damage some Cucurbitaceae (e. g., momordica, lagenaria). In the work of Kandybina (1977), *B. latifrons* is absent. In diagnostic key of Balmès et Mouttet (2017) both species are given, but the main focus is on host plants and the number of tubules on the anterior spiracles, which can lead to misidentification.

9 The length of the interspiracular processes is clearly more than $\frac{1}{2}$ the length of the inferior slit of the posterior spiracle or approximately equal to it (Figs. 11c, 12a). The neck of the mandibular sclerite is clearly expressed (Fig. 11a) *Bactrocera dorsalis*

– The length of the interspiracular processes is approximately equal to or less than half the length of the inferior slit of the posterior spiracle (Fig. 12b). The neck of the mandibular scleritis is pronounced or absent other species

Acknowledgements. The authors express their gratitude to the specialists of the All-Russian Plant Quarantine Center: N.I. Ershova, S.Yu. Mukhanov and D.G. Kasatkin, as well as specialists of the Zoological Institute

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воробьева Л., Камаев И., 2017. Таксономический статус и инвазионная активность восточной фруктовой мухи *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). – Карантин растений. Наука и практика, 2 (20): 42–49. [Vorobiova L., Kamayev I., 2017. Taxonomic status and invasive activity of oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). – Plant Health. Research and Practice, 2 (20): 50–56].
2. Камаев И., 2017. Идентификация личинок карантинных для Российской Федерации видов мух-пестрокрылок (Diptera: Tephritidae). – Карантин растений. Наука и практика, 4 (22): 52–58. [Kamayev I., 2017. Identification of larval stage of Russian quarantine fruit fly species (Diptera: Tephritidae). – Plant Health. Research and Practice, 4 (22): 59–64].
3. Кандыбина М. Личинки плодовых мух-пестрокрылок (Diptera, Tephritidae). – Л.: Наука, 1977, 211 с.
4. Balmès V., Mouttet R., 2017. Development and validation of a simplified morphological identification key for larvae of tephritid species most commonly intercepted at import in Europe. – EPPO Bulletin, 47 (1): 91–99. URL: <https://doi.org/10.1111/epp.12369>.
5. De Meyer M., Delatte H., Mwatawala M., Quilici S., Vayssières J.-F., Virgilio M., 2015. A review of the current knowledge on *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera, Tephritidae) in Africa, with a list of species included in *Zeugodacus*. – ZooKeys, 540: 539–557. URL: <https://doi.org/10.3897/zookeys.540.9672>.
6. De Villiers M., Hattingh V., Kriticos D., Brunel S., Vayssières J.-F., Sinzogan A., Billah M., Mohamed S., Mwatawala M., Abdelgader H., Salah F., De Meyer M., 2016. The potential distribution of *Bactrocera dorsalis*: considering phenology and irrigation patterns. – Bulletin of Entomological Research, 106 (1): 19–33. URL: <https://doi.org/10.1017/S0007485315000693>.
7. Drew R., Hancock D., 2016. A review of the subgenus *Bulladacus* Drew & Hancock of *Bactrocera* Macquart (Diptera: Tephritidae: Dacinae), with description of two new species from Papua New Guinea. – Australian Entomologist, 43 (4): 189–210. URL: <https://www.researchgate.net/publication/313412069>.
8. Drew R., Romig M. Tropical fruit flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia. – Wallingford, UK: CABI, 2013, 653 p.
9. Drew R., Romig M. Keys to the Tropical Fruit Flies of South-East Asia. – Wallingford, UK: CABI, 2016, 487 p.
10. Hardy D., 1949. Studies in Hawaiian fruit flies (Diptera, Tephritidae). – Proceedings of the Entomology Society of Washington, 51: 181–205.
11. Korneyev V., Mishustin R., Korneyev S., 2017. The Carpomyini Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) of Europe, Caucasus, and Middle East: New Records of Pest Species, with Improved Keys. – Vestnik Zoologii, 51 (6): 453–470. URL: <https://doi.org/10.2478/vzoo-2017-0056>.
12. Vargas R., Piñero J., Leblanc L., 2015. An overview of pest species of *Bactrocera* fruit flies (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approaches for their management with a focus on the Pacific region. – Insects, 6 (2): 297–318. URL: <https://doi.org/10.3390/insects6020297>.
13. Virgilio M., Jordaens K., Verwimp C., White I., De Meyer M., 2015. Higher phylogeny of frugivorous

of the Russian Academy of Sciences O.G. Ovchinnikova and G.M. Suleimanova for the material kindly provided for research and photography.

The work was partially carried out within the framework of research work on the state assignment (R&D № 5121042600339-5).

REFERENCES

1. Vorobiova L., Kamayev I. Taxonomic status and invasive activity of oriental fruit fly *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Plant Health. Research and Practice*, 2017; 2 (20): 50–56.
2. Kamayev I. Identification of larval stage of Russian quarantine fruit fly species (Diptera: Tephritidae). *Plant Health. Research and Practice*, 2017; 4 (22): 59–64.
3. Kandybina M. Fruit flies larvae (Diptera, Tephritidae) [Lichinki plodovykh mukh-pestroкрылок]. L., Nauka, 1977, 211 p. (in Russian).
4. Balmès V., Mouttet R. Development and validation of a simplified morphological identification key for larvae of tephritid species most commonly intercepted at import in Europe. *EPPO Bulletin*, 2017; 47 (1): 91–99. URL: <https://doi.org/10.1111/epp.12369>.
5. De Meyer M., Delatte H., Mwatawala M., Quilici S., Vayssières J.-F., Virgilio M. A review of the current knowledge on *Zeugodacus cucurbitae* (Coquillett) (Diptera, Tephritidae) in Africa, with a list of species included in *Zeugodacus*. *ZooKeys*, 2015; 540: 539–557. URL: <https://doi.org/10.3897/zookeys.540.9672>.
6. De Villiers M., Hattingh V., Kriticos D., Brunel S., Vayssières J.-F., Sinzogan A., Billah M., Mohamed S., Mwatawala M., Abdelgader H., Salah F., De Meyer M. The potential distribution of *Bactrocera dorsalis*: considering phenology and irrigation patterns. *Bulletin of Entomological Research*, 2016; 106 (1): 19–33. URL: <https://doi.org/10.1017/S0007485315000693>.
7. Drew R., Hancock D. A review of the subgenus *Bulladacus* Drew & Hancock of *Bactrocera* Macquart (Diptera: Tephritidae: Dacinae), with description of two new species from Papua New Guinea. *Australian Entomologist*, 2016; 43 (4): 189–210. URL: <https://www.researchgate.net/publication/313412069>.
8. Drew R., Romig M. Tropical fruit flies (Tephritidae: Dacinae) of South-East Asia. Wallingford, UK: CABI, 2013, 653 p.
9. Drew R., Romig M. Keys to the Tropical Fruit Flies of South-East Asia. Wallingford, UK: CABI, 2016, 487 p.
10. Hardy D. Studies in Hawaiian fruit flies (Diptera, Tephritidae). *Proceedings of the Entomology Society of Washington*, 1949; 51: 181–205.
11. Korneyev V., Mishustin R., Korneyev S. The Carpomyini Fruit Flies (Diptera: Tephritidae) of Europe, Caucasus, and Middle East: New Records of Pest Species, with Improved Keys. *Vestnik Zoologii*, 2017; 51 (6): 453–470. URL: <https://doi.org/10.2478/vzoo-2017-0056>.
12. Vargas R., Piñero J., Leblanc L. An overview of pest species of *Bactrocera* fruit flies (Diptera: Tephritidae) and the integration of biopesticides with other biological approaches for their management with a focus on the Pacific region. *Insects*, 2015; 6 (2): 297–318. URL: <https://doi.org/10.3390/insects6020297>.

flies (Diptera, Tephritidae, Dacini): Localised partition conflicts and a novel generic classification. – *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 85: 171–179. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.01.007>.

14. White I., 2006. Taxonomy of the Dacina (Diptera: Tephritidae) of Africa and the Middle East. – *African Entomology Memoir*, No. 2: 1–156.

15. White I., Elson-Harris M. Fruit Flies of Economic Significance. Their Identification and Bionomics. – Wallingford, UK: CAB International, 1992, 600 p.

16. Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза (ЕПКО ЕАЭС), утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. [Электронный ресурс]. – URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01413200/cncd_06032017_158 (дата обращения: 15.09.2021).

17. Онлайн-практика карантина растений. Видеопроект ФГБУ «ВНИИКР». Препарирование личинки плодовой мухи [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.youtube.com/watch?v=cuOCW5xWdf0> (дата обращения: 20.09.2021).

18. CABI. Invasive Species Compendium, 2021 [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.cabi.org/isc> (дата обращения: 20.09.2021).

19. Carroll L., Norrbom A., Dallwitz M., Thompson F., 2004 onwards. Pest fruit flies of the world – larvae. Version: 9th April 2019 [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.delta-intkey.com/ffl/index.htm> (дата обращения: 15.09.2021).

20. EPPO Global Database, 2021 [Электронный ресурс]. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 22.09.2021).

21. ISPM 27 [Интернет-документ]. DP 09: Genus *Anastrepha* Schiner, 2015, 33 p. [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.ippc.int/ru/publications/81502/> (дата обращения: 02.09.2021).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Арапова Мария Юрьевна, младший научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; аспирант кафедры энтомологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия; *e-mail: maria.yurevna@bk.ru*.

Камаев Илья Олегович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией экологии и генетики насекомых и клещей, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0003-4251-4862, e-mail: ilyakamayev@yandex.ru*.

13. Virgilio M., Jordaens K., Verwimp C., White I., De Meyer M. Higher phylogeny of frugivorous flies (Diptera, Tephritidae, Dacini): Localised partition conflicts and a novel generic classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2015; 85: 171–179. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.01.007>.

14. White I. Taxonomy of the Dacina (Diptera: Tephritidae) of Africa and the Middle East. *African Entomology Memoir*, 2006; No. 2: 1–156.

15. White I., Elson-Harris M. Fruit Flies of Economic Significance. Their Identification and Bionomics. Wallingford, UK: CAB International, 1992, 600 p.

16. Common list of quarantine objects of the Eurasian Economic Union, approved by the Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission dated November 30, 2016 [Electronic resource]. URL: https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01413200/cncd_06032017_158 (last accessed: 15.09.2021).

17. Online Practice of Plant Quarantine. Video project of FGBU “VNIICR”. Dissection of fruit fly larvae [Electronic resource]. URL: <https://www.youtube.com/watch?v=cuOCW5xWdf0> (last accessed: 20.09.2021).

18. CABI. Invasive Species Compendium, 2021 [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/isc> (last accessed: 20.09.2021).

19. Carroll L., Norrbom A., Dallwitz M., Thompson F., 2004 onwards. Pest fruit flies of the world – larvae. Version: 9th April 2019 [Electronic resource]. URL: <https://www.delta-intkey.com/ffl/index.htm> (last accessed: 15.09.2021).

20. EPPO Global Database, 2021 [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 22.09.2021).

21. ISPM 27 [Online document]. DP 09: Genus *Anastrepha* Schiner, 2015, 33 p. [Electronic resource]. URL: <https://www.ippc.int/ru/publications/81502/> (last accessed: 02.09.2021).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Maria Arapova, Junior Researcher, Research and Methodology Department of Entomology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; Postgraduate Student, Entomology Department, Faculty of Biology, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia; *e-mail: maria.yurevna@bk.ru*.

Ilya Kamayev, PhD in Biology, Head of the Ecology and Genetics of Insects and Mites Laboratory, Senior Researcher, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0003-4251-4862, e-mail: ilyakamayev@yandex.ru*.

Охридский минер *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera: Gracillariidae): распространение на территории России и возможные меры контроля

Д.И. РЯСКИН¹, О.А. КУЛИНИЧ²,
Ю.И. ГНИНЕНКО³, Е.Н. АРБУЗОВА⁴

¹ Воронежский филиал ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), г. Воронеж, Воронежская обл., Россия

^{2,4} ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

³ ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства» (ФБУ «ВНИИЛМ»), г. Пушкино, Московская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0003-0950-1349,
e-mail: ryaskin.dmitry@yandex.ru

² ORCID 0000-0002-7531-4982,
e-mail: okulinich@mail.ru

³ ORCID 0000-0002-2815-3362,
e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-0547-2547,
e-mail: pazhitnovaeeee@mail.ru

АННОТАЦИЯ

На территории России каштановая минирующая моль *Cameraria ohridella* выявлена в 2003 г. в Калининградской области, в 2005 г. – в Москве. В настоящее время вид широко распространился в европейской части РФ, и его ареал продолжает расширяться. На пораженных растениях каштана уничтожается до 90% листовой поверхности. В статье анализируются различные способы борьбы с *C. ohridella*, применяемые в России и ряде европейских стран. Наиболее эффективен химический метод борьбы с вредителем, однако пестициды, официально разрешенные для применения против *C. ohridella* в РФ, отсутствуют. Имеются системные препараты – «Инсегар», «Люфокс», «Конфидор», «Актеллик», «Искра», «Имидаклоприд» и др., которые могут подойти для применения в России на каштане, но они рекомендованы против других видов фитофагов. Также деревья можно защитить от *C. ohridella*, введя в ствол системный инсектицид. Этот способ не получил широкого применения в Европе, т. к. затраты оказались крайне высоки. Что касается России, то сегодня в стране нет ни одного зарегистрированного препарата, разрешенного к применению против этого вредителя с использованием технологии внутриветвистовых инъекций. С учетом этого обстоятельства научно-исследовательские работы в большей степени должны быть направлены на разработку биологических мер борьбы. Учеными проводятся исследования по поиску подходящих видов паразитов, которых можно будет использовать для подавления численности *C. ohridella*.

Horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic (Lepidoptera: Gracillariidae): distribution in Russia and possible control measures

D.I. RYASKIN¹, O.A. KULINICH²,
YU.I. GNINENKO³, E.N. ARBUZOVA⁴

¹ Voronezh Branch of FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIIEK"), Voronezh, Voronezh Oblast, Russia

^{2,4} FGBU "VNIIEK", Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

³ FBU "All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry" (FBU "VNIILM"), Pushkino, Moscow Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0003-0950-1349,
e-mail: ryaskin.dmitry@yandex.ru

² ORCID 0000-0002-7531-4982, e-mail: okulinich@mail.ru

³ ORCID 0000-0002-2815-3362,
e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-0547-2547,
e-mail: pazhitnovaeeee@mail.ru

ABSTRACT

In Russia, the horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* was detected in 2003 in Kaliningrad Oblast, and in 2005 – in Moscow. Currently, the species is widely spread in European part of the Russian Federation, and its area continues to expand. On affected chestnut plants, up to 90% of the leaf surface is destroyed. The article analyzes various ways to control *C. ohridella* used in Russia and some European countries. The most effective is the chemical method of pest control, however, pesticides officially allowed to be used against *C. ohridella* are absent in Russia. There are systemic preparations – Insegar, Lufoks, Konfidor, Aktellik, Iskra, Imidacloprid, etc., which may be suitable for use in Russia on chestnut, but they are recommended against other phytophage species. Trees can also be protected from *C. ohridella* by injecting a systemic insecticide into the trunk. This method was not widely used in Europe, because the costs were extremely high. As for Russia, today there is not a single registered drug in the country that is approved for use against this pest using intra-stem injection technology. Given this circumstance, research work should be more directed towards the development of biological control measures. Scientists are conducting research to find suitable species of parasitoids that can be used to suppress the population of *C. ohridella*.

Ключевые слова. Каштановый минер, минирующая моль, Gracillariidae, Lepidoptera, конский каштан, лесная продукция, методы контроля, методы борьбы, вредители, ущерб.

ВВЕДЕНИЕ



Зеленые насаждения являются неотъемлемой частью городской экосистемы, в которой они выполняют многочисленные функции (снижение запыленности и загазованности воздуха, борьба с шумом и др.). Одним из таких древесных растений, хорошо переносящим условия города, зимостойким и подходящим для аллеиных, групповых и одиночных посадок, является конский каштан обыкновенный (*Aesculus hippocastanum* L.). Однако в настоящий момент насаждения каштана находятся под угрозой поражения из-за массового размножения опасного вредителя – каштановой минирующей моли, или охридского минера *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986.

ОБЗОРНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

В 1986 г. у берегов Охридского озера в Македонии была описана небольшая моль, развивающаяся на каштане конском. Однако, как показали более поздние исследования (Lees et al., 2011), этот вредитель в указанном регионе присутствовал еще в XIX веке. Впоследствии выяснилось, что данный вид стал активно распространяться на новые территории, очевидно, с посадочным материалом каштанов, которые используются как декоративные растения при озеленении в различных городах и других населенных пунктах (Золотухин, 2020). Вскоре вред, наносимый каштановой минирующей молью, был отмечен во многих странах Европы. Европейские исследователи фиксируют, что кроме конского каштана минер может повреждать и другие виды этого рода (Гниненко, 2002). Наиболее сильно повреждаются каштаны следующих видов: конский каштан красный *A. pavia*, конский каштан желтый *A. lutea* и конский каштан мелкоцветковый *A. parviflora*. В то же время выявились устойчивые к вредителю виды рода *Aesculus*: конский каштан голый *A. glabra* и конский каштан индийский *A. indica*. В Чехии кроме каштана минер также заселял клены: клен остролистный *Acer platanoides* и клен белый *A. pseudoplatanus* (Голосова, 2009; Гниненко, Раков, 2011).

По данным украинских исследователей, среди произрастающих на территории Украины видов *Aesculus* наиболее устойчивым к каштановому минеру оказался конский каштан мясо-красный *A. carnea*, на котором отмечалась повышенная смертность гусениц минера (Зерова и др., 2007).

По состоянию на 2021 г. (EPPO, 2021) в Европе охридский минер распространен на территории практически всех европейских стран от Португалии

Key words. horse-chestnut leaf miner, leaf miner, Gracillariidae, Lepidoptera, horse-chestnut, forest products, control methods, control methods, pests, damage.

INTRODUCTION



Green spaces are an integral part of the urban ecosystem, in which they perform numerous functions (reducing dust and air pollution, noise control, etc.). One of these woody plants, which tolerates city conditions well, winter-hardy and suitable for avenue, group and single plantings, is horse-chestnut (*Aesculus hippocastanum* L.). However, at the moment, chestnut plantations are under threat due to the mass reproduction of the dangerous pest – horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986.

OVERVIEW

In 1986, off the coast of Lake Ohrid in Macedonia, a small moth was described developing on horse chestnut. However, as shown by later studies (Lees et al., 2011), this pest was present in this region as early as the 19th century. Subsequently, it turned out that this species began to actively spread to new territories, apparently with planting material of chestnuts, which are used as ornamental plants for landscaping in various cities and other settlements (Zolotukhin, 2020). Soon, the harm caused by the horse-chestnut leaf miner was noted in many European countries. European researchers note that, in addition to horse chestnut, the miner can also damage other species of this genus (Gninenko, 2002). The following chestnut species are most severely damaged: the red buckeye *A. pavia*, the yellow buckeye *A. lutea* and the bottlebrush buckeye *A. parviflora*. At the same time, pest-resistant species of the genus *Aesculus* were identified: the Ohio buckeye *A. glabra* and the Indian horse-chestnut *A. indica*. In the Czech Republic, in addition to chestnut, the miner also inhabited maples: the Norway maple *Acer platanoides* and the sycamore maple *A. pseudoplatanus* (Golosova, 2009; Gninenko, Rakov, 2011).

According to Ukrainian researchers, among the *Aesculus* species growing on the territory of Ukraine, the most resistant to the horse-chestnut leaf miner is the red horse-chestnut *A. carnea*, on which an increased mortality of miner caterpillars was noted (Zerova et al., 2007).

As of 2021 (EPPO, 2021) in Europe, the horse-chestnut leaf miner is distributed in almost all European countries from Portugal to the Russian Federation, including Ukraine and Belarus. It has also been identified in Asia: Armenia, Georgia, Turkey, Kazakhstan, and Kyrgyzstan (Gabrid, 2012; Gninenko et al., 2016).

до Российской Федерации, включая Украину и Беларусь. Он также выявлен и в Азии: Армении, Грузии, Турции, Казахстане и Киргизии (Габрид, 2012; Гниненко и др., 2016).

На территории России каштановая минирующая моль была выявлена в 2003 г. в Калининградской области, в 2005 г. – в Москве, в 2007 г. – в Санкт-Петербурге (Голосова, 2009). В настоящее время фитофаг *C. ohridella* встречается в Белгородской, Брянской, Волгоградской, Воронежской, Курской, Орловской, Пензенской, Псковской, Ростовской, Рязанской, Самарской, Саратовской и Смоленской областях, в Краснодарском крае и на Северном Кавказе, и его ареал продолжает расширяться (Раков, 2011; Аксёненко и др., 2020; Kirichenko et al., 2021; EPPO, 2021).

Гусеницы этой бабочки живут внутри листа, выгрызая в нем листовые мины, имеющие вид крупных пятен. Среднее количество мин, даже при развитии 1-го поколения, может достигать 175 шт. на один сложный лист. На пораженных растениях уничтожается до 90% листовой поверхности (см. рисунок). В середине или конце лета лишенные хлорофилла листья усыхают, а затем опадают, что приводит к повторному, так называемому осеннему цветению каштанов. Частичная или полная потеря листвы, или дефолиация, уменьшает интенсивность фотосинтеза и ухудшает общее физиологическое состояние дерева. Развитие молодых листьев и повторное цветение влияют на физиологические механизмы устойчивости каштанов и в первую очередь на морозостойкость, что отрицательно сказывается на способности деревьев успешно переносить зимовку (Алексашкина, 2017; Селиховкин и др., 2020).

В Европе сейчас вид встречается практически повсеместно, где произрастает конский каштан. Повреждение этих деревьев – а во многих городах Европы они составляют основу городского

On the territory of Russia, the horse-chestnut leaf miner was reported in 2003 in Kaliningrad Oblast, in 2005 in Moscow, and in 2007 in St. Petersburg (Golosova, 2009). At present, the phytophage *C. ohridella* occurs in Belgorod, Bryansk, Volgograd, Voronezh, Kursk, Orel, Penza, Pskov, Rostov, Ryazan, Samara, Saratov and Smolensk Oblasts, in Krasnodar Krai and the North Caucasus, and its range continues to expand (Rakov, 2011; Aksyonenko et al., 2020; Kirichenko et al., 2021; EPPO, 2021).

The caterpillars of this moth live inside the leaf, gnawing out leaf mines reminding of large spots. The average number of mines, even with the development of the 1st generation, can reach 175 pieces per leaf. On affected plants, up to 90% of the leaf surface is destroyed (see figure). In the middle or end of summer, the leaves, deprived of chlorophyll, dry out and then fall off, which leads to the repeated, so-called autumn flowering of chestnuts. Partial or complete loss of foliage, or defoliation, reduces the intensity of photosynthesis and worsens the general physiological condition of the tree. The development of young leaves and repeated flowering affect the physiological mechanisms of chestnut resistance and, first of all, frost resistance, which negatively affects the ability of trees to successfully endure wintering (Aleksashkina, 2017; Selikhovkin et al., 2020).

In Europe, the species is now detected almost everywhere where horse-chestnut grows. Damage to these trees – and in many European cities they form the basis of urban greening – is a major problem for community greening and park landscaping services. The aesthetic damage from dried and browned foliage already in June is so serious that in many European cities, municipalities are taking measures to replace the common horse-chestnut with other tree species that are more resistant to the horse-chestnut leaf miner, spending huge sums from the budget. In Berlin alone, the cost of replacing 80% of the city's



Рисунок. Общий внешний вид дерева (а) и листовые пластины конского каштана (b, c), пораженные охридским минером, г. Россошь, Воронежская обл., 2021 г. (фото Д.И. Рясина)

Fig. General appearance of the tree (a) and horse-chestnut leaf blades (b, c), affected by the horse-chestnut leaf miner, Rossosh, Voronezh Oblast, 2021 (photo by D.I. Ryaskin)

озеленения – представляет серьезную проблему для служб, связанных с озеленением населенных пунктов и ландшафтным дизайном парков. Эстетический ущерб от засохшей и побуревшей уже в июне листвы настолько серьезен, что во многих европейских городах муниципалитеты принимают меры по замене конского каштана обыкновенного на другие, более устойчивые к охридскому минеру виды деревьев, тратя огромные суммы из бюджета. Только в Берлине затраты по замене 80% городских конских каштанов были оценены в 300 млн евро (Золотухин, 2020).

Предполагается, что охридский минер, или минирующая моль *C. ohridella*, может занять практически всю территорию РФ, на которой в озеленительных посадках используется конский каштан. Сам по себе вредитель не вызывает гибель этой породы деревьев, но существенно нарушает ландшафтный дизайн.

На сегодняшний день в мировой практике существует несколько методов контроля данного серьезного древесного вредителя и борьбы с ним, которые имеют как свои достоинства, так и недостатки. Ниже приведен краткий обзор по мерам борьбы с охридским минером, используемым в РФ и ряде европейских стран.

Наиболее простой метод – механический контроль. Метод включает в себя ряд мероприятий по контролю за распространением каштановой минирующей моли без использования различного рода инсектицидов; основу таких мероприятий составляет механическое удаление листьев во время листопада. Необходимо тщательно собирать и уничтожать все опадающие листья. Этот метод позволяет незначительно снизить уровень поражения листвы, и обычно к концу сезона повреждения появятся вновь из-за развития вредителя в 2-м и 3-м поколениях и высокой способности самок к перелётам (Шумовская, 2019).

Кроме того, рекомендуется смывание бабочек минера, сидящих на стволах, струей воды. Этот метод позволяет безопасно уничтожить часть вредителя и снизить долю зараженных листьев. Проблемой использования данного метода считаются технические сложности при обработке высоких деревьев. Для этого требуется соответствующая техника (с подъемниками) или опрыскиватели высокого давления (Голосова, 2009; Синельников, 2019).

Профилактические меры борьбы с охридским минером могут осуществляться путем наложения клейких поясов на стволы непосредственно перед началом лёта минеров. Производится развешивание клейких лент, пластинок (дощечек, кусков пластика) желтого цвета, смазанных клеем «Пестификс», на уровне расположения основной массы листвы с целью отлова минирующей моли в период ее лёта. Также возможно поздней осенью и ранней весной перекапывать почву под кронами каштанов на площади, равной 1,5 проекции кроны дерева, однако все эти профилактические меры борьбы существенно не снижают численность вредителя (Синельников, 2019; Аксёненко и др., 2020).

Методы на основе применения феромонов, из-за очень высокой плотности заселения *C. ohridella* и особенностей произрастания деревьев (каштана) в городских насаждениях, не могут являться эффективным методом борьбы по снижению

horse-chestnuts was estimated at 300 million euros (Zolotukhin, 2020).

It is supposed that the horse-chestnut leaf miner *C. ohridella* can occupy almost the entire territory of the Russian Federation, where horse-chestnut is used in landscaping. By itself, the pest does not cause the death of this tree species, but significantly disrupts landscape design.

To date, in world practice, there are several methods for controlling this serious tree pest, which have both advantages and disadvantages. Below is a brief overview of the control measures against the horse-chestnut leaf miner used in the Russian Federation and some European countries.

The simplest method is mechanical control. It includes some measures to control the spreading of horse-chestnut leaf miner without using various kinds of insecticides; the basis of such activities is the mechanical removal of leaves during the leaf fall. It is necessary to carefully collect and destroy all falling leaves. This method allows to slightly reduce the level of damage to foliage, and usually by the end of the season damage will reappear due to the development of the pest in the 2nd and 3rd generations and the high ability of females to migrate (Shumovskaya, 2019).

In addition, it is recommended to wash the miner butterflies sitting on the trunks with a stream of water. This method allows to safely destroy part of the pest and reduce the proportion of infected leaves. The problem of using this method is considered to be technical difficulties in processing tall trees. This requires appropriate equipment (with lifts) or high-pressure sprayers (Golosova, 2009; Sinelnikov, 2019).

Preventive measures against the horse-chestnut leaf miner can be carried out by applying adhesive belts to the trunks immediately before the start of the flight of the miners. Adhesive tapes, yellow plates (boards, pieces of plastic) smeared with Pestifix glue are hung at the level of the main mass of foliage in order to catch the miner during its flight. It is also possible in late autumn and early spring to dig up the soil under chestnut crowns on an area equal to 1.5 of the tree crown projection, however, all these preventive control measures do not significantly reduce the pest population (Sinelnikov, 2019; Aksyonenko et al., 2020).

Methods based on the use of pheromones, due to the very high population density of *C. ohridella* and the characteristics of the trees growth (chestnut) in urban plantations cannot be an effective method of controlling the decrease in the miner number and the disorientation of insects. This method can only be recommended for pest monitoring (Golosova et al., 2008; CABI, 2021).

The most effective chemical method of pest control. It should be noted that the pesticides officially approved for use against the horse-chestnut leaf miner *C. ohridella* on the territory of the Russian Federation, are absent. However, in the course of experimental tests conducted with respect to a number of insecticides against the horse-chestnut leaf miner on chestnut, the most effective were systemic preparations

численности минера и дезориентации насекомых. Этот метод можно рекомендовать только при проведении мониторинга вредителя (Голосова и др., 2008; CABI, 2021).

Наиболее эффективен химический метод борьбы с вредителем. Следует отметить, что пестициды, официально разрешенные для применения против каштанового минера *C. ohridella* на территории РФ, отсутствуют. Однако, в ходе опытных испытаний, проведенных в отношении ряда инсектицидов против охридского минера на каштане, наиболее результативными показали себя системные препараты, разрешенные к применению на территории РФ против других фитофагов: «Инсегар», «Люфокс», «Конфидор», «Актеллик», «Искра», «Имидаклоприд» и др. (Раков, 2015; Шумовская, 2019).

Деревья также можно защитить от *C. ohridella*, введя в ствол системный инсектицид. Стволовые инъекции были протестированы во многих странах с использованием различного оборудования и инсектицидов, но они не получили широкого распространения (CABI, 2021). Затраты по их применению оказались выше, чем по другим методам борьбы. Кроме того, инъекции, как правило, травмируют деревья: при попадании в ствол различного вида инфекций в местах проколов могут возникать некрозы. Следует также отметить, что в настоящее время в России нет ни одного зарегистрированного препарата, разрешенного к применению против этого вредителя с использованием технологии внутривенозных инъекций.

Другим способом снижения численности *C. ohridella* может быть внесение инсектицидов в почву, но, как показал опыт, этот метод оказался малопродуктивным и очень затратным (CABI, 2021).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на то, что новый инвазивный вредитель уже более 18 лет расселяется на нашей территории, целенаправленные исследования по разработке мер защиты от него фактически не ведутся. Предполагаем, что это связано с тем, что каштан выращивается преимущественно в городах, населенных пунктах и парковых зонах, где применение пестицидов законодательно запрещено или ограничено.

Анализ наличия средств, разрешенных к применению для защиты деревьев в населенных пунктах, показал, что если в государственном каталоге за 2000 г. числилось 6 таких инсектицидов, то в настоящее время имеется только 3 инсектицида, разрешенных к применению против огромного числа вредителей, повреждающих деревья и кустарники в городах.

Поэтому для защиты конского каштана легально нет возможности применить ни одного как химического, так и биологического препарата. Это делает проблему защиты этого ценного и красивого дерева, которое украшает многие российские города, практически неразрешимой.

С учетом данного обстоятельства научно-исследовательские работы в большей степени должны быть направлены на разработку биологических мер борьбы. Проводятся исследования по поиску подходящих видов паразитоидов. Так, в результате исследований, проведенных на территории Украины, выявлено 38 видов паразитов охридского

approved for use on the territory of the Russian Federation against other phytophages: Insegar, Lufox, Konfidor, Aktellik, Iskra, Imidacloprid, etc. (Rakov, 2015; Shumovskaya, 2019).

Trees can also be protected from *C. ohridella* by injecting a systemic insecticide into the trunk. Stem injections have been tested in many countries using a variety of equipment and insecticides, but have not been widely adopted (CABI, 2021). The costs of their use were higher than for other methods of struggle. In addition, injections, as a rule, injure trees: if various types of infections enter the trunk at the puncture sites, necrosis may occur. It should also be noted that at present in Russia there is not a single registered drug approved for use against this pest using intra-stem injection technology.

Another way to reduce the number of *C. ohridella* can be the introduction of insecticides into the soil, but experience has shown that this method turned out to be unproductive and very costly (CABI, 2021).

RESULTS AND DISCUSSION

Despite the fact that a new invasive pest has been spreading in Russia for more than 18 years, targeted research on the development of measures to protect against it has not actually been conducted. We assume that this is due to the fact that chestnut is grown mainly in cities, towns and park areas, where the use of pesticides is prohibited or limited by law.

An analysis of the availability of agents permitted for use to protect trees in settlements showed that if the state catalog for the year 2000 included 6 such insecticides, then at present there are only 3 insecticides approved for use against a huge number of pests that damage trees and shrubs in cities.

Therefore, to protect the horse-chestnut, it is legally impossible to use either a single chemical or biological drug. This makes the problem of protecting this valuable and beautiful tree, which adorns many Russian cities, practically insoluble.

Given this circumstance, research work should be directed to the development of biological control measures to a greater extent. Research is underway to find suitable parasitoid species. Thus, as a result of studies carried out on the territory of Ukraine, 38 species of parasites of the horse-chestnut leaf miner were identified, in Italy (Lombardy) – 10, Poland – 14, the Czech Republic – 7, Germany – 15, Turkey (Istanbul) – 10 species (Kostyukov et al., 2014).

As biological agents against the horse-chestnut leaf miner, insects identified in the south of Russia – chalcids of the order Hymenoptera of the family Eulophidae: *Achrysocharoides niveipes* (Thomson), *Baryscapus nigroviolaceus* (Nees), *Cirrospilus vittatus* Walker and *Minotetrastichus frontalis* (Nees). The listed species of eulophids are common inhabitants of various natural and agricultural biocenoses, and each is trophically associated with dozens of species of mining phytophages that develop on many species of woody, shrubby and herbaceous plants. Also, in Krasnodar Krai in 2013, a whole complex of insects was found – parasites of the horse-chestnut leaf miner, among them – *Scambus*

минера, в Италии (Ломбардия) – 10, Польше – 14, Чехии – 7, Германии – 15, Турции (Стамбул) – 10 видов (Костюков и др., 2014).

В качестве биологических агентов против каштановой минирующей моли могут быть использованы выявленные на юге России насекомые – хальциды отряда перепончатокрылых семейства Eulophidae: *Achrysocharoides niveipes* (Thomson), *Baryscapus nigroviolaceus* (Nees), *Cirrospilus vittatus* Walker и *Minotetrastichus frontalis* (Nees). Перечисленные виды эвлофид являются обычными обитателями различных естественных и сельскохозяйственных биоценозов, и каждый трофически связан с десятками видов минирующих фитофагов, развивающихся на многих видах древесных, кустарниковых и травянистых растений. Также в Краснодарском крае в 2013 г. был выявлен целый комплекс насекомых – паразитов охридского минера, среди них – *Scambus brevicornis* (Gravenhorst), *S. calobatus* (Gravenhorst) (сем. Ichneumonidae); *Apanteles bicolor* (Nees), *A. circumscriptus* Nees (Braconidae); *Mesopolobus mediterraneus* (Mayr), *Pteromalus semotus* (Walker) (Pteromalidae); *Eupelmus microzonus* Förster, *E. urozonus* Dalman, *Macroneura vesicularis* (Retzius) (Eupelmidae) и многие другие. Уровень зараженности вредителя паразитами составлял 12,5–33,6%, однако этого было недостаточно для предотвращения вспышки численности охридского минера (Костюков и др., 2014).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая современную ситуацию с возможностью эффективной борьбы с рассматриваемым вредителем и дальнейшего сохранения такого положения дел, остается лишь надеяться, что со временем у этого инвазивного вида в условиях европейской части России и Северного Кавказа выявятся естественные паразиты и хищники, которые сформируют с *Cameraria ohridella* стабильные трофические связи и которые будут регулировать численность этого фитофага на определенном уровне. Самый же негативный прогноз – это постепенная гибель конского каштана в условиях города и его замена в ландшафтном озеленении другими декоративными породами (видами) древесных растений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксёненко Е., Корнев И., Будаева А., Кондратьева А., 2020. Вспышка численности каштановой минирующей моли (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) (Lepidoptera: Gracillariidae) в условиях города Воронежа в 2020 году (с. 17–24). Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 50-летию «ВНИИЛГИСбиотех», 3–4 декабря 2020 года. Воронеж: ФГБУ «ВНИИЛГИСбиотех», 424 с.
2. Алексашкина О., 2017. Аспекты распространения каштановой минирующей моли в урбанизированных экосистемах в условиях Центрально-Черноземного района Российской Федерации. – Вестник сельского развития и социальной политики, № 3 (15): 38–39.
3. Габрид Н., 2012. Каштановая минирующая моль – новый инвазивный вид в Кыргызстане. First International Biology Congress in Kyrgyzstan, 24–27 September 2012. Kyrgyzstan-Turkey Manas University,
4. *brevicornis* (Gravenhorst), *S. calobatus* (Gravenhorst) (family Ichneumonidae); *Apanteles bicolor* Nees, *A. circumscriptus* Nees (Braconidae); *Mesopolobus mediterraneus* (Mayr), *Pteromalus semotus* (Walker) (Pteromalidae); *Eupelmus microzonus* Förster, *E. urozonus* Dalman, *Macroneura vesicularis* (Retzius) (Eupelmidae) and many others. The level of pest infestation with parasites was 12.5–33.6%, but this was not enough to prevent an outbreak of the horse-chestnut leaf miner (Kostyukov et al., 2014).
5. **CONCLUSION**
Taking into account the current situation with the possibility of effective control of the pest in question and further preservation of this state of affairs, one can only hope that over time this invasive species in the conditions of the European part of Russia and the North Caucasus will reveal natural parasites and predators that will form stable trophic relationships with *Cameraria ohridella* and which will regulate the abundance of this phytophage at a certain level. The most negative forecast is the gradual death of horse-chestnut in the city and its replacement in landscape gardening with other decorative species of woody plants.
6. **REFERENCES**
1. Aksyonenko E., Kornev I., Budaeva A., Kondratieva A. Outbreak of horse-chestnut leaf miner (*Cameraria ohridella* Deschka & Dimic, 1986) (Lepidoptera: Gracillariidae) in the conditions of the city of Voronezh in 2020 (p. 17–24). Materials of the All-Russian scientific and practical conference dedicated to the 50th anniversary of VNIILGISbiotech, December 3–4, 2020. Voronezh: FGBU “VNIILGISbiotech”, 2020; 424 p. (in Russian).
2. Aleksashkina O. Aspects of the spread of chestnut leaf-mining moth in urban ecosystems in the conditions of central Black Earth Region of the Russian Federation [Aspekty rasprostraneniya kashtanovoy miniruyushchey moli v urbanizirovannykh ekosistemakh v usloviyakh Tsentral’no-Chernozemnogo rayona Rossiyskoy Federatsii]. *Bulletin of Rural Development and Social Policy*, 2017; 3 (15): 38–39 (in Russian).
3. Gabrid N. Horse-chestnut leaf miner – a new invasive species in Kyrgyzstan. First International Biology Congress in Kyrgyzstan, 24–27 September 2012. Kyrgyzstan-Turkey Manas University, Faculty of Science, Biology Department, Bishkek, Kyrgyzstan, 113–114 (in Russian).
4. Gninenko Yu. Invasions of alien species into forest communities. Ecological safety and invasion of alien organisms. Collection of materials of the round table of the All-Russian Conference on the Environmental Security of Russia (June 4–5, 2002). Moscow: IPEE im. A.N. Severtsova, IUCN, 2002; 65–74 (in Russian).
5. Gninenko Yu., Rakov A. Horse-chestnut leaf miner [Okhridskiy miner, ili kashtanovaya miniruyushchaya mol-pestryanka]. *Plant protection and quarantine*. 2011; 2: 34–35 (in Russian).
6. Gninenko Yu., Mukhamadiev N., Ashikbaev N. Ohrid miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera,

Faculty of Science, Biology Department, Bishkek, Kyrgyzstan, 113–114.

4. Гниненко Ю., 2002. Инвазии чуждых видов в лесные сообщества. Экологическая безопасность и инвазии чужеродных организмов. Сборник материалов круглого стола Всероссийской конференции по экологической безопасности России (4–5 июня 2002 г.). М.: ИПЭЭ им. А.Н. Северцова, IUCN (МСОП), 65–74.

5. Гниненко Ю., Раков А., 2011. Охридский минер, или каштановая минирующая моль-пестрянка. – Защита и карантин растений, № 2: 34–35.

6. Гниненко Ю., Мухамадиев Н., Ашикбаев Н., 2016. Охридский минер *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) – обнаружение в Центральной Азии. – Российский журнал биологических инвазий, № 6: 14–16.

7. Голосова М., Гниненко Ю., Голосова Е. Каштановый минер *Cameraria ohridella* – опасный карантинный вредитель на объектах городского озеленения. ВПРС МОББ, МГУЛ, ВНИИЛМ. – М., 2008, 26 с.

8. Голосова Е., 2009. Мониторинг каштанового минера *Cameraria ohridella* в Главном ботаническом саду РАН. – Вестник МГУЛ – Лесной вестник, № 5: 131–133.

9. Зерова М., Никитенко Г., Нарольский Н., Гершензон З., Свиридов С., Лукаш О., Бабидорич М. Каштановая минирующая моль в Украине. – Киев, 2007, 87 с.

10. Золотухин В., 2020. УлПравда. Информационный портал. Охридский минер. Где поселился и как выжил экзотический гость [Электронный ресурс]. – URL: <https://ulpravda.ru/rubrics/nash-krai/okhridskii-minr-gde-poselilsia-i-kak-vyzhil-ekzoticheskii-gost> (дата обращения: 11.10.2021).

11. Костюков В., Кошелева О., Наконечная И., Гунашева З., 2014. Первое сообщение о паразитах каштановой моли в России. – Защита и карантин растений, № 9: 41–42.

12. Раков А., 2011. Охридский минер *Cameraria ohridella* в России. – Вестник МГУЛ – Лесной вестник, № 4: 85–88.

13. Раков А. Охридский минер и другие инвазивные дендрофильные филлофаги в условиях формирования их ареалов в европейской части России: автореф. дис. кандидата наук: 06.01.07 / Раков Александр Генрихович. – М., 2015, 23 с.

14. Селиховкин А., Дренкхан Р., Мандельштам М., Мусолин Д., 2020. Инвазии насекомых-вредителей и грибных патогенов древесных растений на северо-западе европейской части России. – Вестник Санкт-Петербургского университета. Науки о Земле, 65 (2): 263–283.

15. Kirichenko N., Karpun N., Akulov E., Samarina L., Mamaev N., Musolin D., 2021. The Invasive Horse-Chestnut Leaf Miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Southern Russia: Preliminary Molecular Genetic Characterization. – Proceedings MDPI, 68 p.

16. Синельников К., 2019. Центр независимой экспертизы состояния зеленых насаждений – Новости. Способы борьбы с каштановой минирующей молью (охридский минер) без применения пестицидов [Электронный ресурс]. – URL: <https://vitusltd.ru/blog/lesozaschita/17205> (дата обращения: 21.09.2021).

Gracillariidae) – detection in Central Asia [Okhridskiy miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) – obnaruzheniye v Tsentralnoy Azii]. *Russian Journal of Biological Invasions*, 2016; 6: 14–16 (in Russian).

7. Golosova M., Gninenko Yu., Golosova E. The horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* – a dangerous quarantine pest in urban landscaping [Kashtanovyy miner *Cameraria ohridella* – opasnyy karantinnyy vreditel na obyektakh gorodskogo ozeleneniya]. VPRS MOBB, MGUL, VNIILM. M., 2008, 26 p. (in Russian).

8. Golosova E. Monitoring of the horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* in the Main Botanical Garden of the Russian Academy of Sciences [Monitoring kashtanovogo minera *Cameraria ohridella* v Glavnom botanicheskom sadu RAN]. MGUL Bulletin, Forestry Bulletin, 2009; 5: 131–133 (in Russian).

9. Zerova M., Nikitenko G., Narolsky N., Gershenzon Z., Sviridov S., Lukash O., Babidorich M. Horse-chestnut leaf miner in Ukraine [Kashtanovaya miniruyushchaya mol v Ukraine]. Kyiv, 2007, 87 p. (in Russian).

10. Zolotukhin V., 2020. UlPravda. Informational portal. Horse-chestnut leaf miner. Where did the exotic guest settle and how did he survive [Electronic resource]. – URL: <https://ulpravda.ru/rubrics/nash-krai/okhridskii-minr-gde-poselilsia-i-kak-vyzhil-ekzoticheskii-gost> (last accessed: 11.10.2021) (in Russian).

11. Kostyukov V., Kosheleva O., Nakonechnaya I., Gunasheva Z. The first reporting about the parasites of *Cameraria ohridella* in Russia [Pervoye soobshcheniye o parazitakh kashtanovoy moli v Rossii]. *Plant Protection and Quarantine*, 2014; 9: 41–42 (in Russian).

12. Rakov A. *Cameraria ohridella* in Russia [Okhridskiy miner *Cameraria ohridella* v Rossii]. MGUL Bulletin, Forestry Bulletin, 2011; 4: 85–88 (in Russian).

13. Rakov A. *Cameraria ohridella* and other invasive dendrophilous phyllophagous under the conditions of the formation of their ranges in the European part of Russia: author. dis. Candidate of Sciences: 06.01.07 / Rakov Alexander Genrikhovich. M., 2015, 23 p. (in Russian).

14. Selikhovkin A.V., Drenkhan R., Mandelsh-tam M.Yu., Musolin D.L. Invasions of insect pests and fungal pathogens of woody plants into the northwestern part of European Russia [Invazii nasekomykh-vreditel'ey i gribnykh patogenov drevesnykh rasteniy na severo-zapade yevropeyskoy chasti Rossii]. *Vestnik of Saint Petersburg University. Earth Sciences*, 2020; 65 (2): 263–283 (in Russian).

15. Kirichenko N., Karpun N., Akulov E., Samarina L., Mamaev N., Musolin D., 2021. The Invasive Horse-Chestnut Leaf Miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) in the Southern Russia: Preliminary Molecular Genetic Characterization. – Proceedings MDPI, 68 p.

16. Sinelnikov K., 2019. Center for independent expertise of the state of green spaces – News. Ways to combat the horse-chestnut leaf miner without the use of pesticides [Electronic resource]. URL: <https://vitusltd.ru/blog/lesozaschita/17205> (last accessed: 21.09.2021).

17. Шумовская Т., 2019. Ботаничка.ру. О мире растений и загородной жизни. Каштановая минирующая моль – методы профилактики и борьбы [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.botanichka.ru/article/kashtanovaya-miniruyushhaya-mol-metodyi-profilaktiki-i-borbyi/> (дата обращения: 21.09.2021).

18. CABI. Invasive Species Compendium, Detailed coverage of invasive species threatening livelihoods and the environment worldwide [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/40598> (дата обращения: 21.09.2021).

19. EPPO Global Database. Distribution, last updated 2021-06-03 [Электронный ресурс]. – URL: <https://gd.eppo.int/taxon/LITHOD/distribution> (дата обращения: 13.10.2021).

20. Lees D., Lack H., Rougerie R., Hernandez-Lopez A., Raus T., Avtzi N., Augustin S., Lopez-Vaamonde C., 2011. Tracking origins of invasive herbivores through herbaria and archival DNA: the case of the horse-chestnut leaf miner. – *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9 (6): 322–328. URL: <https://doi.org/10.2307/23034440>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ряскин Дмитрий Иванович, младший научный сотрудник научно-методического отдела Воронежского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Воронеж, Воронежская обл., Россия; ORCID 0000-0003-0950-1349, e-mail: ryaskin.dmitry@yandex.ru.

Кулинич Олег Андреевич, доктор биологических наук, начальник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7531-4982, e-mail: okulinich@mail.ru.

Гниненко Юрий Иванович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией защиты леса от инвазионных и карантинных организмов ФБУ «ВНИИЛМ», г. Пушкино, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-2815-3362, e-mail: gninenko-yuri@mail.ru.

Арбузова Елена Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-0547-2547, e-mail: pazhitnovae@mail.ru.

17. Shumovskaya T., 2019. Botanichka.ru. About the world of plants and country life. Horse-chestnut leaf miner – methods of prevention and control [Electronic resource]. – URL: <https://www.botanichka.ru/article/kashtanovaya-miniruyushhaya-mol-metodyi-profilaktiki-i-borbyi/> (last accessed: 21.09.2021).

18. CABI. Invasive Species Compendium, Detailed coverage of invasive species threatening livelihoods and the environment worldwide [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/40598> (last accessed: 21.09.2021).

19. EPPO Global Database. Distribution, last updated 2021-06-03 [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/LITHOD/distribution> (last accessed: 13.10.2021).

20. Lees D., Lack H., Rougerie R., Hernandez-Lopez A., Raus T., Avtzi N., Augustin S., Lopez-Vaamonde C. Tracking origins of invasive herbivores through herbaria and archival DNA: the case of the horse-chestnut leaf miner. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011; 9 (6): 322–328 [Electronic resource]. URL: <https://doi.org/10.2307/23034440>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Dmitry Ryaskin, Junior Researcher, Research and Methodology Department of Voronezh Branch of FGBU “VNIKR”, Voronezh, Voronezh Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-0950-1349, e-mail: ryaskin.dmitry@yandex.ru.

Oleg Kulinich, Advanced Doctor of Biology, Head of Forest Quarantine Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7531-4982, e-mail: okulinich@mail.ru.

Yuri Gninenko, PhD in Biology, Head of the Laboratory for Forest Protection from Invasive and Quarantine Organisms, VNIILM, Pushkino, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-2815-3362, e-mail: gninenko-yuri@mail.ru.

Elena Arbuzova, PhD in Biology, Senior Researcher of Forest Quarantine Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-0547-2547, e-mail: pazhitnovae@mail.ru.

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

О.Ю. СЛОВАРЕВА¹, Г.Н. БОНДАРЕНКО²

^{1,2} ФГБУ «Всероссийский центр карантина 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 впадных 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 “VNIICR”), 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



Концепция 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 в 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 организмов 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 аскомицетных 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 впадины повреждения неправильной формы до 10 см в диаметре. Пикниды 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 впадой 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, образуют темные пикниды 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 пикнид 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 биопрепаратов 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 аскомицетных 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 пикниды, 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, пикнид, 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 пероксиуксусной и соляной кислотами значительно снижает степень

and 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 peroxyacetic 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., Андросова 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., 1979. *Diaporthe melonis* sp. nov., a new soft rot of market cantaloupes. – Journal of Phytopathology, 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, 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

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:

http://www.wto.org/rust/ru/sectors/plant/plant_sanitary_measures/04_agreement_on_sps_measures.htm

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.wto.org/rust/ru/sectors/plant/plant_sanitary_measures/04_agreement_on_sps_measures.htm

<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).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Словарева Ольга Юрьевна, младший научный сотрудник отдела организации межлабораторных сравнительных 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.

[fsvps.ru/importExport/wto/trial/agreement.htm](http://portal.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).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga Slovareva, Junior Researcher, Interlaboratory Comparative Tests Organization Department, FGBU “VNIICR”, 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 “VNIICR”, 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.

Феромониторинг жуков-усачей рода *Monochamus* в различных особо охраняемых природных территориях Республики Карелии

С.Н. ЛЯБЗИНА^{1,4}, А.А. ЧАЛКИН², Е.В. СИНИЦЫНА³,
О.В. СИНКЕВИЧ⁴, О.А. ДОНСКОЙ⁵

¹ ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

^{2,3,5} ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия

^{1,4} Карельский филиал ФГБУ «ВНИИКР», г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия

¹ ORCID 0000-0003-3386-5724, e-mail: slyabzina@petrsu.ru

² ORCID 0000-0002-7937-4667, e-mail: chalkin10@ya.ru

³ ORCID 0000-0002-6314-3151,

e-mail: katesinitsyna@gmail.com

⁴ ovbio@mail.ru

⁵ dos20343@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты 4-летних (2018–2021 гг.) исследований усачей рода *Monochamus* Dejean, 1821 в биocenозах пяти основных особо охраняемых природных территорий (ООПТ) Республики Карелии: заповедников «Кивач» и «Костомукшский», национальных парков «Водлозерский», «Паанаярви» и «Ладожские шхеры». Отлов жуков проводили с помощью феромонных ловушек производства ФГБУ «ВНИИКР». Для синтеза агрегационного феромона использовали смесь, состоящую из следующих компонентов: 2-ундецилоксиэтан-1-ол (I) (монохамол), ипсенол (II), ипсдиенол (III), 2-метил-3-бутен-1-ол (IV), альфа-пинен (V) и вербенон (VI). Черные усачи рода *Monochamus* обнаружены во всех изученных ООПТ. К широко распространенным видам относятся *Monochamus sutor* (Linnaeus, 1758) и *M. galloprovincialis* (Olivier, 1795), которые обильно встречаются по всей республике, включая Крайний Север. Выявлено преобладание взрослых особей *M. sartor urussovii* (Fischer von Waldheim, 1806) и *M. sutor* в хвойных насаждениях, а *M. galloprovincialis* в лиственных лесах. Наибольшее количество личинок усачей рода *Monochamus* отмечено в сосняке зеленомошном. Все обнаружения зафиксированы на поваленных хвойных деревьях – сосне (*Pinus sylvestris*) и ели (*Picea abies*), где они наиболее часто локализовались в комлевой части. Лёт жуков начинается с конца мая и заканчивается в сентябре. Пик их активности отмечен с середины июля.

Ключевые слова. Феромоны насекомых, жуки-усачи рода *Monochamus*, защита леса, карантинный объект, фитосанитарное состояние, ООПТ.

Pheromonitoring of longhorn beetles of the genus *Monochamus* in various specially protected natural territories of the Republic of Karelia

S.N. LYABZINA^{1,4}, A.A. CHALKIN², E.V. SINITSYNA³,
O.V. SINKEVICH⁴, O.A. DONSKOY⁵

¹ Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia

^{2,3,5} FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIICR"), Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia

^{1,4} Karelian branch of FGBU "VNIICR", Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia

¹ ORCID 0000-0003-3386-5724, e-mail: slyabzina@petrsu.ru

² ORCID 0000-0002-7937-4667, e-mail: chalkin10@ya.ru

³ ORCID 0000-0002-6314-3151,

e-mail: katesinitsyna@gmail.com

⁴ ovbio@mail.ru

⁵ dos20343@gmail.com

ABSTRACT

The results of 4-year (2018–2021) studies of *Monochamus* Dejean, 1821 longhorn beetles in the biocenoses of five main specially protected natural areas (SPNA) of Republic of Karelia are presented: reserves "Kivach" and "Kostomukshsky", national parks "Vodlozersky", "Paanayarvi" and "Ladoga skerries". Beetles were caught using pheromone traps manufactured by FGBU "VNIICR". To synthesize the aggregation pheromone, a mixture consisting of the following components was used: 2-undecyloxyethane-1-ol (I) (monochamol), ipsenol (II), ipsdienol (III), 2-methyl-3-butene-1-ol (IV), alpha-pinene (V) and verbenone (VI). Beetles of the genus *Monochamus* were found in all studied protected areas. Widespread species include *Monochamus sutor* (Linnaeus, 1758) and *M. galloprovincialis* (Olivier, 1795), which are abundant throughout the republic, including the Far North. The predominance of adult individuals of *M. sartor urussovii* (Fischer von Waldheim, 1806) and *M. sutor* in coniferous plantations, and *M. galloprovincialis* in deciduous forests was revealed. The largest number of *Monochamus* larvae was observed in the green moss pine forest. All detections were recorded on fallen coniferous trees – pine (*Pinus sylvestris*) and spruce (*Picea abies*), where they were most often localized in the butt end. The beetle flight is from late May till September. The peak of their activity has been marked since mid-July.

Key words. Insect pheromones, longhorn beetles of the genus *Monochamus*, forest protection, quarantine pest, phytosanitary situation, protected areas.

ВВЕДЕНИЕ



ерные усачи рода *Monochamus* наряду с другими ксилобионтами имеют особое значение для лесного хозяйства, являясь вредителями древесины. Например, в последние годы они причастны к деградациям еловых насаждений на юге Красноярского края (Tatarintsev et al., 2021). Этот род жуков относится к объектам внутреннего карантина на территории РФ, являясь переносчиком сосновой стволовой нематоды *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner, 1934) Nickle, 1970 (Кулинич и др., 2017). Родиной нематоды считается Северная Америка, откуда она была занесена в Азию, а затем и в Португалию, где патоген обнаружили в 1999 г. (Mota et al., 1999), позже *B. xylophilus* выявили в Испании (Abelleira et al., 2011), где патоген вызывал массовую гибель сосновых древостоев (de la Fuente et al., 2018).

На территории Карелии, как и на всей территории РФ, сосновая стволовая нематода в настоящее время не отмечена, но встречается близкородственный вид *Bursaphelenchus mucronatus* (Mamiya & Enda, 1979), который периодически регистрируют в деревянной транспортировочной таре и в некоторых ООПТ (в биоценозах заповедника «Кивач» и национального парка «Водлозерский») (Зинников и др., 2010; Чалкин и др., 2021). Этот гельминт также может вызывать wilt хвойных, особенно при совместном заражении с патогенными бактериями (Рысс, Чернецкая, 2009). Нематоды локализуются в трахеях усача в большом количестве и передаются здоровому дереву при дополнительном питании жука (Schroeder, 2019).

На сегодняшний день 6 видов рода *Monochamus* включены в Единый перечень карантинных объектов как ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза. Несмотря на строгие правила импорта и фитосанитарные меры, в мире ежегодно фиксируются новые места локализации патогена *B. xylophilus* с серьезными экологическими и экономическими последствиями (Kong et al., 2021). Все это обуславливает требование особого мониторинга жуков рода *Monochamus* на лесопокрываемых территориях в мире и в Российской Федерации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В течение полевых сезонов 2018–2021 гг. исследования проводили в пяти ООПТ Республики Карелии: национальных парках «Паанаярви», «Водлозерский», «Ладожские шхеры» и заповедниках «Костомукшский», «Кивач». Все исследуемые территории расположены в различных районах республики и имеют уникальные природные особенности. Национальный парк «Паанаярви» находится на Крайнем Севере вблизи Северного полярного круга и с запада граничит с финским национальным парком «Оуланка». Заповедник «Костомукшский» также совместно с национальным парком «Дружба» Финляндской Республики образует общую природоохранную территорию. Площадь национального парка «Водлозерский» включает 2 региона Северо-Запада: Республику Карелию и Архангельскую область. Природный государственный заповедник «Кивач» – одна из старейших

INTRODUCTION

being wood pests, beetles of the genus *Monochamus*, along with other xylobionts, are of particular importance for forestry. For example, in recent years they have been involved in the degradation of spruce stands in the south of Krasnoyarsky Krai (Tatarintsev et al., 2021). This genus of beetles belongs to the objects of internal quarantine on the territory of the Russian Federation, being a carrier of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner, 1934) Nickle, 1970 (Kulinich et al., 2017). The nematode is considered to be native to North America, from where it was introduced to Asia, and then to Portugal, where the pathogen was detected in 1999 (Mota et al., 1999), later *B. xylophilus* was identified in Spain (Abelleira et al., 2011), where the pathogen caused mass death of pine stands (de la Fuente et al., 2018).

On the territory of Karelia and the entire territory of the Russian Federation, pine wood nematode is currently not registered, but there is a closely related species *Bursaphelenchus mucronatus* (Mamiya & Enda, 1979), which is periodically recorded in a wooden shipping container, and in some protected areas (community Kivach Nature Reserve and National Park “Vodlozersky”) (Sennikov et al., 2010; Chalkin etc., 2021). This helminth can also cause coniferous wilt, especially when co-infected with pathogenic bacteria (Ryss, Chernetskaya, 2009). Nematodes are localized in the trachea of the beetle in large numbers and are transmitted to a healthy tree with additional nutrition of the beetle (Schroeder, 2019).

To date, 6 species of the genus *Monochamus* are included in the Common List of Quarantine Objects as limitedly present in the territory of the Eurasian Economic Union. Despite strict import regulations and phytosanitary measures, new locations of pathogen *B. xylophilus* are recorded annually in the world with serious environmental and economic consequences (Kong et al., 2021). All this leads to the requirement of special monitoring of beetles of the genus *Monochamus* in forested areas in the world and in the Russian Federation.

MATERIAL AND METHODS

During the 2018–2021 field seasons, studies were conducted in five protected areas of the Republic of Karelia: national parks “Paanajarvi”, “Vodlozersky”, “Ladozha skerries” and nature reserves “Kostomukshsky”, “Kivach”. All the studied territories are located in different regions of the republic and have unique natural features. The Paanajarvi National Park is located in the Far North near the Arctic Circle and borders on the Finnish Oulanka National Park from the west. The Kostomukshsky Nature Reserve also forms a common nature conservation area together with the Druzhba National Park of the Republic of Finland. The area of the Vodlozersky National Park includes 2 regions of the Northwest: the Republic of Karelia and Arkhangelsk Oblast. The Kivach Nature Reserve is one of the oldest protected areas in Karelia, it includes all the variety of landscapes characteristic of the middle taiga.

охраняемых территорий в Карелии, он включает в себя все многообразие ландшафтов, характерных для средней тайги.

Отлов имаго жуков производился с помощью феромонных ловушек барьерно-вороночного типа с использованием комплектов с синтетическим агрегационным феромоном производства ФГБУ «ВНИИКР», личинок под корой усыхающих деревьев собирали вручную. Барьерно-вороночные ловушки размещали в смешанном (березняк разнотравный) и хвойных лесах двух типов (сосняк зеленомошный, ельник черничный) в соответствии с инструкцией применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», из расчета 1 ловушка на 1 га.

В качестве синтетического агрегационного феромона использовали смесь, состоящую из следующих шести химических компонентов (рис. 1): 2-ундецилоксиэтан-1-ол (I) (монохамол), ипсенол (II), ипсдиенол (III), 2-метил-3-бутен-1-ол (IV), альфа-пинен (V) и вербенон (VI).

Полученную смесь применяли в диспенсере, представляющем собой пакет из буфлена размером 8 × 5 см, разделенный на 2 части термосварочным швом. Нижняя и верхняя части диспенсеров соединены хлопковой нитью. В нижней части диспенсера находится носитель из фильтровальной бумаги, пропитанный смесью и обернутый хлопковой нитью, а также отверстие для крепления диспенсера. В верхней части диспенсера находится свободный конец хлопковой нити и линия отреза.

Изучение сезонной активности и фенологических особенностей усачей проводили в заповеднике «Кивач», для этого ловушки выставляли с мая по сентябрь в трех различных биотопах заповедника (рис. 2). Биотоп ельник черничный (ЕЧ), расположенный на северной границе поселка Кивач, отличается наличием локального ветровала возрастом 4–6 лет, где находятся как сложенные, так и вываленные ели обыкновенные (*Picea abies*) и сибирские (*P. obovata*) возрастом 100–150 лет. Березняк разнотравный (БР) представлен ненарушенным участком леса площадью 1,7 га с преобладанием березы 90–100 лет. Сосняк зеленомошный (СЗ) – бор возрастом около 150 лет, через который проходит линия электропередачи, где в 2020 г. проводились мероприятия

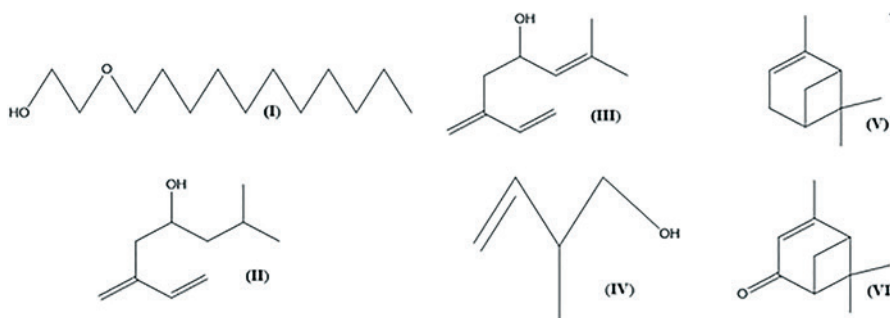


Рис. 1. Компоненты агрегационного феромона жуков-усачей рода *Monochamus* производства ФГБУ «ВНИИКР»: 2-ундецилоксиэтан-1-ол (I) (монохамол), ипсенол (II), ипсдиенол (III), 2-метил-3-бутен-1-ол (IV), альфа-пинен (V), вербенон (VI) (ориг.)

Fig. 1. Components of the aggregation pheromone of the longhorn beetles of the genus *Monochamus* of FGBU «VNIICR»: 2-undecyloxyethane-1-ol (I) (monochamol), ipsenol (II), ipsdienol (III), 2-methyl-3-butene-1-ol (IV), alpha-pinene (V), verbenone (VI) (orig.)

Имаго жуков были пойманы с помощью барьерно-ворончатых феромонных ловушек, используя комплекты с синтетическим агрегационным феромоном, произведенным ФГБУ «ВНИИКР», личинки собирали вручную под корой усыхающих деревьев. Барьерно-ворончатые ловушки размещали в смешанных (березняк разнотравный) и хвойных лесах двух типов (сосняк зеленомошный, ельник черничный) в соответствии с инструкцией по применению феромонов ФГБУ «ВНИИКР», в расчете 1 ловушка на 1 га.

Смесь, состоящую из следующих шести химических компонентов, использовали в качестве синтетического агрегационного феромона (рис. 1): 2-ундецилоксиэтан-1-ол (I)

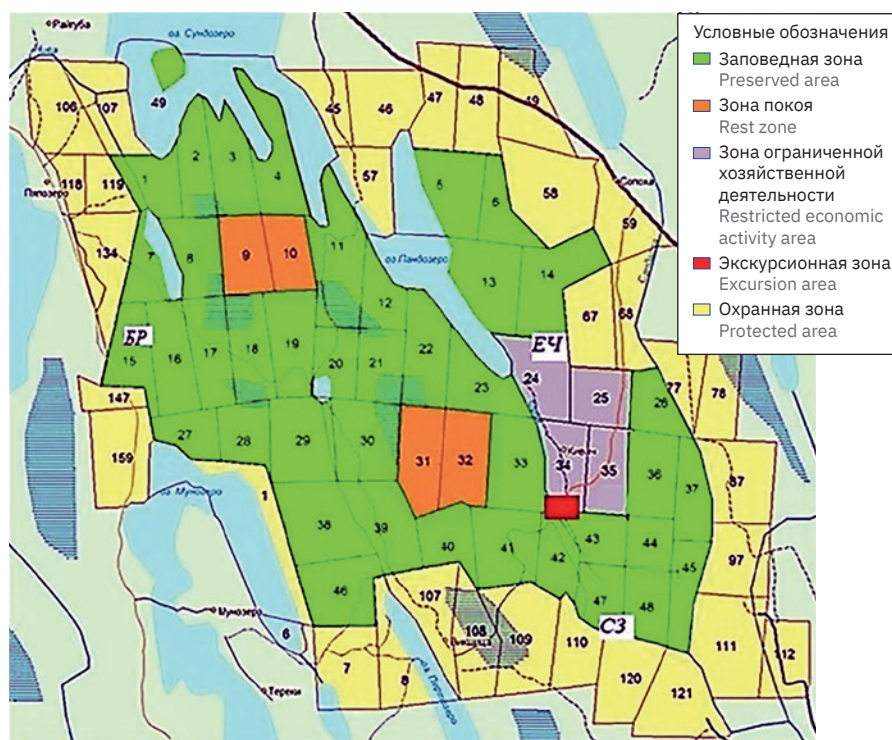


Рис. 2. Места установки феромонных ловушек на территории заповедника «Кивач» (оригинал схемы: <https://zapkivach.ru>)

Fig. 2. Places with exposed pheromone traps on the territory of the Kivach Nature Reserve (original scheme: <https://zapkivach.ru>)



Рис. 3. Самка большого черного елового усача *Monochamus sartor urussovii* (фото А.А. Чалкина)

Fig. 3. Female of *Monochamus sartor urussovii* (photo by A.A. Chalkin)

по расчистке, в связи с чем в течение сезона в непосредственной близости к ловушке находились порубочные остатки хвойных деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На исследуемых охраняемых территориях Карелии зарегистрировано 3 вида черных усачей рода *Monochamus*: черный сосновый *M. galloprovincialis*, малый черный еловый *M. sutor* и большой черный еловый *M. sartor urussovii*. Все они относятся к транспалеарктическим видам (Schroeder, 2019).

Жуки рода *Monochamus* имеют крупные размеры и схожи друг с другом (рис. 3). Основным отличием является наличие опушения срединной полосы на щитке.

Самое широкое распространение в Карелии имеют 2 вида – малый черный еловый (*M. sutor*) и черный сосновый (*M. galloprovincialis*) усачи, которые обильно встречаются по всей республике, включая Крайний Север (рис. 4). Встречаемость большого черного елового усача (*M. sartor urussovii*) в республике невысокая. Известно, что во многих регионах его низкая численность объясняется отсутствием сухостоев и своевременными рубками ухода (Исаев и др., 1988).

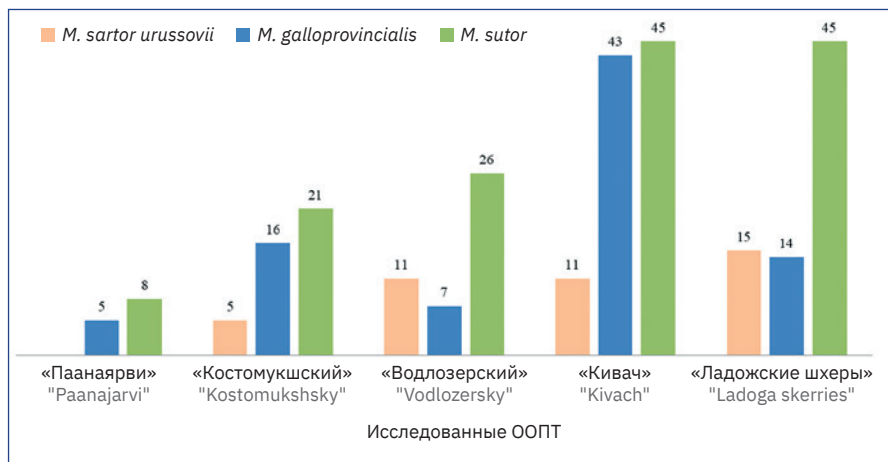


Рис. 4. Количество имаго усачей рода *Monochamus*, отловленных в исследуемых ООПТ Республики Карелии, шт.

Fig. 4. The number of imagoes of the genus *Monochamus* caught in the studied protected areas of the Republic of Karelia, pcs.

(monochamol), ipsenol (II), ipsdienol (III), 2-methyl-3-butene-1-ol (IV), alpha-pinene (V) and verbenone (VI).

The resulting mixture was used in a dispenser, which is an 8 × 5 cm buff bag, divided into 2 parts by a heat-welding seam. The lower and upper parts of the dispensers are connected by cotton thread. At the bottom of the dispenser there is a carrier made of filter paper soaked with a mixture and wrapped with cotton

Таблица 1

Встречаемость имаго усачей рода *Monochamus* в исследуемых биотопах заповедника «Кивач» на 1 га, шт.

Table 1

The occurrence of imagoes of the genus *Monochamus* in the studied biotopes of the Kivach Nature Reserve on 1 ha, pcs.

Вид Species	Биотопы исследования Studied biotopes		
	Сосняк зеленомошный (СЗ) Green moss pine forest (PM)	Ельник черничный (ЕЧ) Blueberry spruce forest (BS)	Березняк разнотравный (БР) Mixed-grass birch forest (MB)
<i>M. galloprovincialis</i>	6	5	15
<i>M. sartor urussovii</i>	4	2	1
<i>M. sutor</i>	15	19	4
Всего Total	25	26	20

Таблица 2

Встречаемость личинок усачей рода *Monochamus* под корой хвойных пород деревьев в исследуемых биотопах заповедника «Кивач», шт.

Table 2

The occurrence of *Monochamus* larvae under the bark of coniferous trees in the studied biotopes of the Kivach Nature Reserve, pcs.

Вид Species	Биотопы исследования Biotopes research		
	Сосняк зеленомошный (СЗ) Green moss pine forest (PM)	Ельник черничный (ЕЧ) Blueberry spruce forest (BS)	Березняк разнотравный (БР) Mixed-grass birch forest (MB)
<i>M. galloprovincialis</i>	25	14	4
<i>M. sartor urussovii</i>	6	5	0
<i>M. sutor</i>	20	24	1
Всего Total	51	43	5

Усачи обнаружены во всех исследуемых биотопах, но с разной плотностью. В сосняке и ельнике количество отловленных усачей было выше, т. к. здесь сосредоточено наибольшее количество ослабленных ветровалом деревьев. В смешанном лесу на площади 1 га отмечена наибольшая плотность черного соснового усача (*M. galloprovincialis*) (табл. 1). Встречаемость этого усача в березняке значительно отличается от сосняка (и тем более от ельника): ($\chi^2 > 3,9$, $df = 1$, $p < 0,02$). Вероятно, присутствие этого вида в таких биотопах связано с дополнительным питанием и активным расселением. Напротив, малый черный еловый усач (*M. sutor*) чаще попадался в ловушки, размещенные в сосновом лесу ($\chi^2 > 6,4$, $df = 1$, $p < 0,006$), чем в смешанном. Наибольшая его плотность на 1 га отмечена в ельнике черничном.

Личинки *Monochamus* были отмечены под корой хвойных деревьев во всех исследованных биотопах (табл. 2). Чаще всего их обнаруживали

thread, as well as a hole for attaching the dispenser. At the top of the dispenser is the free end of the cotton thread and the cut line.

The study of seasonal activity and phenological features of beetles was carried out in the Kivach Nature Reserve, for this purpose traps were exposed from May to September in three different biotopes of the reserve (Fig. 2). The biotope blueberry spruce forest (BS), located on the northern border of the village of Kivach, is distinguished by the presence of a local wind age of 4–6 years, where there are both broken and fallen common spruce (*Picea abies*) and Siberian (*P. obovata*) aged 100–150 years. The mixed-grass birch forest (MB) is represented by an undisturbed forest area of 1.7 hectares with a predominance of birch 90–100 years old. The green moss pine forest (PM) is a forest about 150 years old, through which the power line passes, where clearing measures were carried out in 2020, and therefore, during the season, the felling remains of coniferous pine trees (*Pinus sylvestris*) were in close proximity to the trap.

RESULTS AND DISCUSSION

Three *Monochamus* species have been registered in the studied protected areas of Karelia: *M. galloprovincialis*, *M. sutor* and *M. sartor urussovii*. All of them belong to transpalearctic species (Schroeder, 2019).

Beetles of the genus *Monochamus* are large and similar to each other (Fig. 3). The main external difference is the presence

of pubescence of the median strip on the shield.

The most widespread in Karelia are 2 species – *M. sutor* and *M. galloprovincialis*, which are abundant throughout the republic, including the Far North (Fig. 4). The occurrence of *M. sartor urussovii* in the republic is low. It is known that in many regions its low number is explained by the lack of dead wood and timely logging of care (Isaev et al., 1988).

Longhorn beetles were detected in all the studied biotopes, but with different densities. In the pine and spruce forests, the number of caught beetles was higher, because the largest number of trees weakened by windfall is concentrated here. In a mixed forest on an area of 1 ha, the highest density of *M. galloprovincialis*

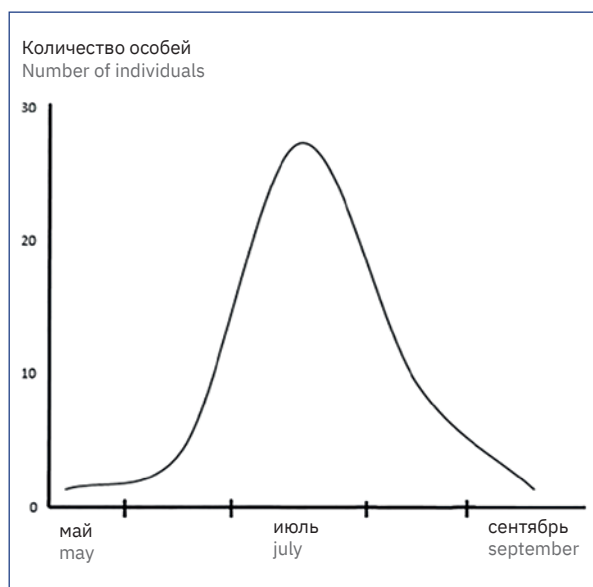


Рис. 5. Динамика активности лёта имаго *Monochamus sutor* в заповеднике «Кивач»
Fig. 5. Dynamics of summer activity of the imago *Monochamus sutor* in the Kivach Nature Reserve

в нижней трети дерева. Продолжительность развития личинок черных усачей под корой в естественных условиях составляет от одного до трех лет, однако обычно занимает 2 года (Исаев и др., 1988). На зимовку они залегают непосредственно под корой или уходят в древесину не глубже 5 мм (Павлов, 2009).

Развиваясь в древесине, личинки черных усачей являются опасными техническими вредителями и могут повреждать лесоматериалы хвойных пород деревьев в период заготовки и хранения. В Северо-Западном регионе плотность поселения личинок в лесу невысокая – от 0,375 до 0,089 шт/дм³; участвуя в разложении древесины, они перерабатывают около 6% от общего объема (Павлов, 2009).

Весной вылет жуков рода *Monochamus* в заповеднике «Кивач» происходит в 3-ю декаду мая, а заканчивается их лёт в конце сентября (рис. 5). В северных районах Карелии лёт начинается на 2 недели позже.

Пик активности приходится на теплый период лета – 2-ю и 3-ю декады июля. Аналогичные сроки активности имаго усачей отмечают в различных регионах (Исаев и др., 1988; Шаповалов, 2012). Потенциальная продолжительность жизни имаго – около трех с половиной месяцев, однако в естественных условиях в большинстве случаев она составляет не более 57 дней (Исаев и др., 1988). Температура воздуха и количество осадков могут существенно влиять на лёт и развитие жуков. Отмечено, что в дождливое и прохладное лето заселение древесины усачами рода *Monochamus* происходит гораздо хуже, чем в засушливые годы, а в период пожаров, наоборот, наблюдаются их вспышки (Середич и др., 2020). Дожди и похолодание задерживают выход жуков из кукольных колыбелек и резко снижают активность уже вышедших особей. Наибольшая их активность наблюдается при температуре 22–27 °C, а свыше 28 °C лёт прекращается (Павлов, 2009).

was noted (Table 1). The occurrence of this beetle in birch significantly differs from pine (and even more so from spruce): ($\chi^2 > 3,9$, $df = 1$, $p < 0,02$). Probably, the presence of this species in such biotopes is associated with additional nutrition and active settlement. On the contrary, *M. sutor* was more often caught in traps placed in a pine forest ($\chi^2 > 6,4$, $df = 1$, $p < 0,006$) than in a mixed forest. Its greatest density per 1 ha is noted in the blueberry spruce forest.

Monochamus larvae have been observed under the bark of coniferous trees in all studied biotopes (Table 2). Most often they were found in the lower third of the tree. The duration of development of *Monochamus* larvae under the bark under natural conditions ranges from one to three years, but usually takes 2 years (Isaev et al., 1988). For the winter, they lie directly under the bark or go into the wood no deeper than 5 mm (Pavlov, 2009).

Developing in wood, *Monochamus* larvae are dangerous technical pests and can damage coniferous wood during harvesting and storage. In the North-Western region, the density of larvae settlement in the forest is low – from 0.375 to 0.089 pcs/dm³; participating in the decomposition of wood, they process about 6% of the total volume (Pavlov, 2009).

In spring, the flight of beetles of the genus *Monochamus* in the Kivach Nature Reserve occurs in the 3rd week of May, and their flight ends at the end of September (Fig. 5). In the northern regions of Karelia, the summer begins 2 weeks later.

The peak of activity falls on the warm period of summer – the 2nd and 3rd weeks of July. Similar periods of activity of imagoes are noted in various regions (Isaev et al., 1988; Shapovalov, 2012). The potential life expectancy of an imago is about three and a half months, but in natural conditions in most cases it is no more than 57 days (Isaev et al., 1988). Air temperature and precipitation can significantly affect the flight and development of beetles. It is noted that in rainy and cool summers, the colonization of wood by *Monochamus* beetles occurs much worse than in dry years, and in the period of fires, on the contrary, their outbreaks are observed (Seredich et al., 2020). Rains and cold snap delay the exit of beetles from pupal cradles and sharply reduce the activity of already released individuals. Their greatest activity is observed at a temperature of 22–27 °C, and ceases over 28 °C for years (Pavlov, 2009).

CONCLUSION

Longhorn beetles of the genus *Monochamus* are detected throughout the territory of Karelia, and their greatest number is noted in the middle and southern parts of the republic. In the studied mixed (birch) and coniferous (pine, spruce) forest biocenoses, the density of *Monochamus* beetles is different. In places with an increased concentration of weakened trees (in pine and spruce forests), a high abundance of *M. sutor* and *M. sartor urussovii* was noted. A high density of *M. galloprovincialis* was found for deciduous forests. The beetle flight is from late May till September. The peak of their activity was noted in the 2nd and 3rd weeks of July. The largest

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Усачи рода *Monochamus* встречаются по всей территории Карелии, и наибольшее их число отмечено в средней и южной частях республики. В исследуемых смешанном (березняк) и хвойных (сосновые, еловые) лесных биоценозах плотность усачей рода *Monochamus* различная. В местах с повышенной концентрацией ослабленных деревьев (в сосняке и ельнике) отмечена высокая численность *M. sutor* и *M. sartor urusovii*. Для лиственных лесов выявлена высокая плотность *M. galloprovincialis*. Лёт жуков начинается с конца мая и заканчивается в сентябре. Пик их активности отмечен в 2-й и 3-й декадах июля. Наибольшее количество личинок усачей рода *Monochamus* отмечено в сосняке зеленомошном, где они локализовались на поваленных деревьях.

Проведенное исследование подтверждает эффективность применения феромонов усачей рода *Monochamus* производства ФГБУ «ВНИИКР» для отлова этих насекомых-ксилофагов в различных лесных ценозах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зинников Д., Морозов Д., Кухарева А., 2010. Экспертиза на выявление древесных нематод в Республике Карелия. – Защита и карантин растений, № 6: 46–47.
2. Исаев А., Рожков А., Киселев В. Черный пихтовый усач *Monochamus urusovi* (Fisch.). – Новосибирск: ГУП «Академический научно-издательский производственно-полиграфический и книгораспространительский центр РАН «Издательство «Наука». Обособленное подразделение «Сибирская издательская фирма «Наука», 1988, 272 с.
3. Кулинич О., Козырева Н., Арбузова Е., 2017. Сосновая стволовая нематода как угроза хвойным насаждениям России. – Лесохозяйственная информация, № 3: 50–66.
4. Павлов В. Лесохозяйственное значение усачей рода *Monochamus* на Северо-Западе РФ / автореферат дис. ... кандидата сельскохозяйственных наук: Гос. лесотехн. академия им. С.М. Кирова. – СПб., 2009, 21 с.
5. Рысс А., Чернецкая А., 2009. Цикл развития *Bursaphelenchus mucronatus* (Mamiya & Enda, 1979) (Nematoda: Aphelenchida). – Паразитология, 43 (3): 206–224.
6. Середич М., Ярмолович В., Кухта В., 2020. Скрининг биологических препаратов для защиты заготовленной древесины от усачей рода *Monochamus* Dejean, 1821 (Coleoptera: Cerambycidae) (с. 306–307). В кн.: Дендробионтные беспозвоночные животные и грибы и их роль в лесных экосистемах (XI Чтения памяти О.А. Катаева). СПб., 452 с.
7. Чалкин А., Зинников Д., Лябзина С., Синкевич О., 2021. Вредители и болезни лесных биоценозов особо охраняемых природных территорий Республики Карелии. – Фитосанитария. Карантин растений, № 2: 9–19.
8. Шаповалов А. Жуки-усачи (Coleoptera, Cerambycidae) Оренбургской области: фауна, распространение, биология. Труды Оренбургского отделения Русского энтомологического общества. Выпуск 3. – Оренбург, 2012, 221 с.
9. Abelleira A., Picoaga A., Mansilla J., Aguin O., 2011. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, Causal Agent of Pine Wilt Disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. – Plant Disease, 95 (6): 776.
- number of *Monochamus* larvae was noted in the green moss pine forest, where they were localized on fallen trees.
- The conducted research confirms the effectiveness of the use of pheromones of *Monochamus* longhorn beetles produced by the FGBU “VNIKR” for catching these xylophagous insects in various forest cenoses.

REFERENCES

1. Zinnikov D., Morozov D., Kukhareva A. Examination for the detection of tree nematodes in the Republic of Karelia [Ekspertiza na vyvavleniye drevesnykh nematod v Respublike Kareliya]. *Plant Health and Quarantine*, 2010; 6: 46–47 (in Russian).
2. Isaev A., Rozhkov A., Kiselev V. *Monochamus urusovi* (Fisch.). Novosibirsk: State Unitary Enterprise “Academic Research and Publishing Production, Printing and Book Distribution Center of the Russian Academy of Sciences” Publishing House “Nauka”. Separate subdivision “Siberian publishing company “Nauka”, 1988, 272 p. (in Russian).
3. Kulnich O., Kozyreva N., Arbuzova E. The Pine Wood Nematode as a Threat to Conifer Forests in Russia [Sosnovaya stvolovaya nematoda kak ugroza khvoynym nasazhdeniyam Rossii]. *Forestry Information*, 2017; 3: 50–66 (in Russian).
4. Pavlov V. Forestry value of longhorn beetles of the genus *Monochamus* in the North-West of the Russian Federation / Abstract of the thesis. ... Candidate of Agricultural Sciences: State forest engineering academy. CM. Kirov. SPb., 2009, 21 p. (in Russian).
5. Ryss A., Chernetskaya A. Development cycle of *Bursaphelenchus mucronatus* (Mamiya & Enda, 1979) (Nematoda: Aphelenchida) [Tsikl razvitiya *Bursaphelenchus mucronatus*]. *Parasitology*, 2009; 43 (3): 206–224 (in Russian).
6. Seredich M., Yarmolovich V., Kukhta V. Screening of biological preparations for the protection of harvested wood from longhorn beetles of the genus *Monochamus* Dejean, 1821 (Coleoptera: Cerambycidae) (p. 306–307) [Skrining biologicheskikh preparatov dlya zashchity zagotovlennoy drevesiny ot usachey roda *Monochamus*]. In: Dendrobiont invertebrates and fungi and their role in forest ecosystems (XI Readings in memory of O.A. Kataev). SPb, 2020; 452 p. (in Russian).
7. Chalkin A.A., Zinnikov D.F., Lyabzina S.N., Sinkevich O.V. Pests and diseases of forest biocenoses of specially protected natural areas of the Republic of Karelia [Vrediteli i bolezni lesnykh biotsenozov osobokhranyayemykh prirodnikh territoriy Respubliki Karelii]. *Plant Health and Quarantine*, 2021; (2): 9–19 (in Russian).
8. Shapovalov A. Longhorn beetles (Coleoptera, Cerambycidae) of Orenburg Oblast: fauna, distribution, bionomy. Proceedings of the Orenburg branch of the Russian Entomological Society. Issue 3. Orenburg, 2012, 221 p. (in Russian).
9. Abelleira A., Picoaga A., Mansilla J., Aguin O. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, Causal Agent of Pine Wilt Disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. *Plant Disease*, 2011; 95 (6): 776.

10. De la Fuente B., Saura S., Beck P., 2018. Predicting the spread of an invasive tree pest: the pine wood nematode in Southern Europe. – *Journal of applied ecology*, 55 (5): 2374–2385.

11. Kong Q., Ding X., Chen Y., Ye J., 2021. Comparison of Morphological Indexes and the Pathogenicity of *Bursaphelenchus xylophilus* in Northern and Southern China. – *Forests*, 12 (3): 310.

12. Mota M., Braasch H., Bravo M., Penas A., Burgermeister W., Metge K., Sousa E., 1999. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. – *Nematology*, Vol. 1: 727–734.

13. Schroeder M., 2019. Trapping strategy for *Monochamus sutor* and *Monochamus galloprovincialis*: Potential vectors of the pine wood nematode in Scandinavia. – *Agricultural and Forest Entomology*, 21 (4): 372–378.

14. Tatarintsev A., Aminev P., Mikhaylov P., Bulanova O., 2021. State of dark coniferous plantations in the southern part of the Yenisei Siberia: the role of biotic factors. – IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 677 (5): 052075.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Лябзина Светлана Николаевна, доктор биологических наук, доцент Петрозаводского государственного университета, младший научный сотрудник Карельского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; ORCID 0000-0003-3386-5724, e-mail: slyabzina@petrsu.ru.

Чалкин Андрей Андреевич, младший научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7937-4667, e-mail: chalkin10@ya.ru.

Синицына Екатерина Витальевна, научный сотрудник лаборатории испытания и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-6314-3151, e-mail: katesinitsyna@gmail.com.

Синкевич Ольга Владимировна, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник Карельского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Петрозаводск, Республика Карелия, Россия; e-mail: ovbio@mail.ru.

Донской Олег Анатольевич, научный сотрудник лаборатории синтеза феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: dos20343@gmail.com.

10. De la Fuente B., Saura S., Beck P. Predicting the spread of an invasive tree pest: the pine wood nematode in Southern Europe. *Journal of applied ecology*, 2018; 55 (5): 2374–2385.

11. Kong Q., Ding X., Chen Y., Ye J. Comparison of Morphological Indexes and the Pathogenicity of *Bursaphelenchus xylophilus* in Northern and Southern China. *Forests*, 2021; 12 (3): 310.

12. Mota M., Braasch H., Bravo M., Penas A., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First report of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe. *Nematology*, 1999; 1: 727–734.

13. Schroeder M. Trapping strategy for *Monochamus sutor* and *Monochamus galloprovincialis*: Potential vectors of the pine wood nematode in Scandinavia. *Agricultural and Forest Entomology*, 2019; 21 (4): 372–378.

14. Tatarintsev A., Aminev P., Mikhaylov P., Bulanova O., 2021. State of dark coniferous plantations in the southern part of the Yenisei Siberia: the role of biotic factors. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. IOP Publishing, 677 (5): 052075.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Svetlana Lyabzina, Doctor of Biological Sciences, Associate Professor of Petrozavodsk State University, Junior Researcher of the Karelian branch of FGBU “VNIIEK”, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia; ORCID 0000-0003-3386-5724, e-mail: slyabzina@petrsu.ru.

Andrey Chalkin, Junior Researcher, Forest Quarantine Department, FGBU “VNIIEK”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7937-4667, e-mail: chalkin10@ya.ru.

Ekaterina Sinitsyna, Researcher, Pheromones Testing and Application Laboratory, FGBU “VNIIEK”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-6314-3151, e-mail: katesinitsyna@gmail.com.

Olga Sinkevich, PhD in Agriculture, Researcher, Karelian Branch of FGBU “VNIIEK”, Petrozavodsk, Republic of Karelia, Russia; e-mail: ovbio@mail.ru.

Oleg Donskoy, Researcher, Pheromones Synthesis Laboratory, FGBU “VNIIEK”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: dos20343@gmail.com.

Разработка и испытание диспенсеров с агрегационным феромоном и аттрактантом для увеличения отлова западного цветочного трипса клеевыми ловушками

Н.Г. ТОДОРОВ¹, А.Ю. ЛОБУР², Н.И. КУЛАКОВА³,
Н.И. ЕРШОВА⁴, М.В. УШКОВА⁵

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»
(ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. Раменское,
Московская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru

² ORCID 0000-0003-2642-1324, e-mail: alex-lobur@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-7746-5661, e-mail: nata7890@mail.ru

⁴ e-mail: ershova_nataliya@vniikr.ru

⁵ e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Метилникотинат и его аналоги являются эффективными аттрактантами для различных видов трипса, в том числе и западного цветочного трипса. Эти соединения являются легколетучими, поэтому для удобства их практического применения в качестве аттрактантов на ловушках необходимо обеспечить их пролонгированное испарение. В статье изложены материалы лабораторных исследований испарения метилникотината с диспенсеров разной конструкции. Наилучшим вариантом оказались пластины размером 2 x 2,5 см, герметично запаиваемые в двойные пакеты из полиэтилена высокого давления толщиной 200 мкм. Этот вариант диспенсера с нанесенным на него аттрактантом (метилникотинат, 150 мг) и агрегационным феромоном (нерил-2-метилбутоат, 1 мг), изготовленным в ФГБУ «ВНИИКР», был испытан на эффективность при отлове западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* на культуре огурец в условиях закрытого грунта цветными клеевыми ловушками «Пластина». Ловушки с разработанными диспенсерами отлавливали в 1,4–1,9 раза больше трипсов по сравнению с контрольными на протяжении 40 дней. После 40 дней экспериментальные и контрольные ловушки отлавливали насекомых-вредителей примерно одинаково, что свидетельствовало об исчерпании ресурса диспенсеров.

Ключевые слова. Метилникотинат, клеевая ловушка, *Frankliniella occidentalis*.

ВВЕДЕНИЕ



калифорнийский, или западный цветочный трипс (ЗЦТ) *Frankliniella occidentalis* – карантинный вредитель, ограниченно распространенный на территории Российской Федерации (Данкверт и др., 2009). В закрытом грунте трипс может

Development and testing of dispensers with aggregating pheromone and attractant to increase the capture of Western flower thrips with sticky traps

N.G. TODOROV¹, A.YU. LOBUR², N.I. KULAKOVA³,
N.I. ERSHOVA⁴, M.V. USHKOVA⁵

FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center"
(FGBU "VNIIEKR"), Bykovo, Ramenskoye,
Moscow Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru

² ORCID 0000-0003-2642-1324, e-mail: alex-lobur@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-7746-5661, e-mail: nata7890@mail.ru

⁴ e-mail: ershova_nataliya@vniikr.ru

⁵ e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com

ABSTRACT

Methyl nicotinate and its analogues are effective attractants for various thrips species, including Western flower thrips. These compounds are highly volatile; therefore, for the convenience of their practical use as attractants in traps, it is necessary to ensure their prolonged evaporation. The article presents the materials of laboratory studies of the evaporation of methyl nicotinate from dispensers of various designs. The best option turned out to be 2 x 2.5 cm plates hermetically sealed in double bags of high-density polyethylene 200 microns thick. This version of the dispenser with an attractant (methyl nicotinate, 150 mg) and an aggregation pheromone (neryl-2-methylbutanoate, 1 mg) applied to it, manufactured at the VNIIEKR, was tested for efficiency when catching the Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* on a cucumber culture in conditions of closed ground with colored sticky traps "Plate". The traps with the developed dispensers caught 1.4–1.9 times more thrips compared to the control ones for 40 days. After 40 days, experimental and control traps caught insect pests in approximately the same way, which indicated the exhaustion of the dispenser resource.

Key words. Methyl nicotinate, sticky trap, *Frankliniella occidentalis*.

INTRODUCTION

Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* is a quarantine pest limitedly present in the Russian Federation (Dankvert et al., 2009). In closed ground, thrips can damage all greenhouse vegetables (cucumber, pepper, eggplant, toma-

повреждать все тепличные овощи (огурец, перец, баклажан, томат, листовые, зеленные овощи), а также декоративные, плодовые и цветочные растения (хризантема, роза, гербера, цикламен, гвоздика, сенполия, пеларгония), цитрусовые, землянику (рис. 1). При поражении трипсом снижается общая урожайность овощных культур и качество плодов, вплоть до полной гибели урожая. Также трипс питается пыльцой, что может приводить к недоразвитости цветков (Ижевский, 1996).

Помимо прямых повреждений, причиненных питанием вредителя, большие потери обусловлены способностью трипсов переносить опасные вирусные заболевания, такие как тосповирус некротической пятнистости бальзамина (INSV) и пятнистое увядание томата (TSWV).

Для обеспечения высокой эффективности защитных мероприятий необходимо своевременное обнаружение ЗЦТ на растениях и наблюдение за сезонной динамикой его численности. Проведение этих мероприятий осложняется тем, что, например, на стадии прониимфы и нимфы эти насекомые развиваются в почве, из-за чего вредитель не может быть вовремя выявлен. Позднее выявление позволяет вредителю размножиться. В этом случае снижается эффективность последующих защитных мероприятий, и ЗЦТ успевает нанести ощутимый ущерб урожаю. Применение

to, lettuce, green vegetables), as well as ornamental, fruit and flower plants (chrysanthemum, rose, gerbera, cyclamen, carnation, Saintpaulia, pelargonium), citrus, strawberries (Fig. 1). When affected by thrips, the overall yield of vegetable crops and the quality of fruits are reduced, up to the complete death of the crop. Also, thrips feeds on pollen, which can lead to underdevelopment of flowers (Izhevsky, 1996).

Apart from direct damage caused by the feeding of the pest, large losses are due to the ability of thrips to serve as a vector of dangerous viral diseases such as Impatiens necrotic spot virus (INSV) and Tomato spotted wilt virus (TSWV).

To ensure the high efficiency of protective measures, it is necessary to timely detect the Western flower thrips on plants and monitor the seasonal dynamics of its abundance. Carrying out these activities is complicated by the fact that, for example, at the stage of pronymph and nymph, these insects develop in the soil, which is why the pest cannot be detected in time. Late detection allows the pest to multiply. In this case, the effectiveness of subsequent protective measures is reduced, and the Western flower thrips has time to cause significant damage to the crop. The use of insecticides for crop protection in greenhouses is limited, on the one hand, by the rapidly developing resistance in the Western flower thrips, and, on the other hand, by damage to the population of entomophages, as a result

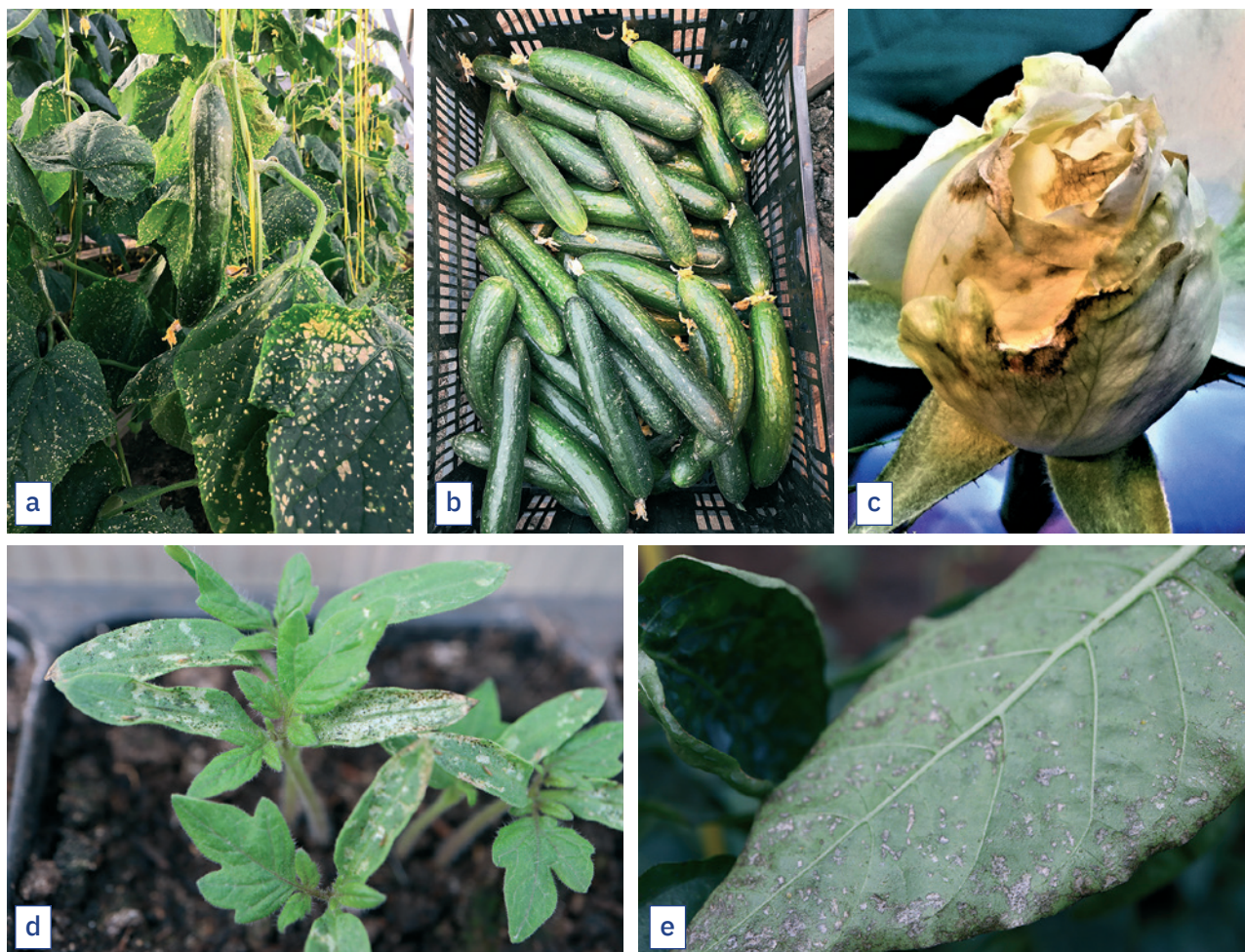


Рис. 1. Повреждения трипсом *Frankliniella occidentalis*:

а – растения огурца, б – плоды огурца, с – бутон розы, д – рассада томатов, е – лист перца (фото Н.И. Кулаковой)

Fig. 1. Damage by *Frankliniella occidentalis*:

а – cucumber plants, б – cucumber fruits, с – rose bud, д – tomato seedlings, е – pepper leaf (photo by N.I. Kulakova)

инсектицидов для защиты урожая в закрытом грунте ограничено, с одной стороны, быстро вырабатывающейся у калифорнийского трипса резистентностью, с другой – нанесением ущерба популяции энтомофагов, в результате чего после обработки возможен всплеск популяции трипсов (Sampson, 2014). С первыми очагами вредителя в условиях закрытого грунта на овощных культурах обычно сталкиваются в начале марта, а на декоративных растениях – уже в начале февраля.

Развитие одного поколения трипсов в теплицах длится 22–30 дней, а за сезон развивается до 10 поколений при оптимальных условиях: температура воздуха – 25–30 °C и относительная влажность – 80–85%. При температуре выше 35 °C и относительной влажности ниже 50% развитие насекомых прекращается, происходит массовая гибель всех стадий вредителя (Ахатов, Ижевский, 2004).

Несмотря на то, что изучением ЗЦТ и разработкой методов его контроля специалисты занимаются более 40 лет, проблема эффективной защиты культурных растений от этого вредителя окончательно не решена и работы в этом направлении не прекращаются. Свидетельством актуальности этой проблемы являются относительно недавние публикации диссертационных работ на соискание ученой степени PhD и обобщающего обзора (Nielsen, 2013; Sampson, 2014; Koschier, 2008).

Для раннего выявления, мониторинга, определения сроков проведения защитных мероприятий и определения эффективности проведенных мероприятий эффективно используются цветные аттрактивные клеевые ловушки «Пластина» (Данкверт и др., 2009; Sampson, 2014). Ученые Центра прикладной энтомологии и паразитологии Кильского университета впервые идентифицировали агрегационный феромон, выделяемый западным цветочным трипсом. Синтетически полученный ими нерил-(S)-2-метилбутаноат в полевых испытаниях на посевах сладкого перца в Испании оказался привлекательным для взрослых особей мужского и женского пола (Hamilton et al., 2005).

Использование в диспенсерах наряду с феромонами еще и аттрактантов позволяет привлекать насекомых не только в период размножения, что увеличивает суммарный отлов. Трипсов привлекает ряд химических соединений, входящих в состав эфирных масел цветов. Обнаружено более 30 таких соединений (Imai et al., 2001; Cao et al., 2020). Было установлено, что наряду с компонентами природных масел трипсов привлекают эфиры никотиновой и изоникотиновой кислоты (Penman et al., 1982; Teulon et al., 1993). В опытах на ольфактометре было показано, что этилникотинат проявляет аттрактивность к ЗЦТ в диапазоне дозировок в 4 порядка от 10^{-4} до 1 мкл. Большинство других душистых соединений, в том числе и гераниол, проявляли аттрактивность в диапазоне дозировок 1–2 порядка (Davidson et al., 2008). Применение смеси двух аттрактантов, например п-анизальдегида и метилизоникотината, не увеличивало эффективность привлечения (Teulon et al., 2007); это связано, вероятно, с наличием у трипсов только одного рецептора для распознавания ароматов, и поэтому эффект синергизма при применении нескольких

из которых а surge in the thrips population is possible after treatment (Sampson, 2014). The first outbreaks of the pest in greenhouse conditions on vegetable crops are usually reported in early March, and on ornamental plants – already in early February.

The development of one thrips generation in greenhouses lasts 22–30 days, and during the season it develops up to 10 generations under optimal conditions: air temperature – 25–30 °C and relative humidity – 80–85%. At temperatures above 35 °C and relative humidity below 50%, the development of insects stops, and mass death of all stages of the pest occurs (Akhatov, Izhevsky, 2004).

Despite the fact that specialists have been studying the Western flower thrips and developing methods for its control for more than 40 years, the problem of effective protection of cultivated plants from this pest has not been finally resolved and work in this direction continues. Evidence of the relevance of this problem is in the relatively recent publications of dissertations for the PhD degree and a general review (Nielsen, 2013; Sampson, 2014; Koschier, 2008).

For early detection, monitoring, determining the timing of protective measures and their effectiveness, colored attractive sticky traps “Plate” are effectively implemented (Dankvert et al., 2009; Sampson, 2014). Scientists at the Centre for Applied Entomology and Parasitology at the University of Keele have identified for the first time an aggregation pheromone secreted by Western flower thrips. The neryl-(S)-2-methylbutanoate synthetically obtained by them in field trials on sweet pepper crops in Spain turned out to be attractive to adult males and females (Hamilton et al., 2005).

The use of attractants along with pheromones in dispensers makes it possible to attract insects not only during the breeding season, which increases the total catch. Thrips are attracted to a number of chemical compounds that make up the essential flower oils. More than 30 such compounds have been detected (Imai et al., 2001; Cao et al., 2020). It was stated that, along with the components of natural oils, thrips are attracted by nicotinic and isonicotinic acids (Penman et al., 1982; Teulon et al., 1993). In experiments on the olfactometer, it was shown that ethyl nicotinate is attractive to Western flower thrips in the dosage range of 4 orders of magnitude from 10^{-4} to 1 µl. Most other aromatic compounds, including geraniol, were attractive in the dosage range of 1–2 orders of magnitude (Davidson et al., 2008). The use of a mixture of two attractants, for example, p-anisaldehyde and methyl isonicotinate, did not increase the attraction efficiency (Teulon et al., 2007); this is probably due to the presence of only one receptor for aroma recognition in thrips, and therefore there was no synergistic effect when several attractants were used (Davidson et al., 2008). It should be noted that methyl and ethyl esters of nicotinic and isonicotinic acid, along with Western flower thrips, also attract other thrips species, with the exception of the Spanish population of *F. occidentalis*. The efficiency of catching different thrips species with specific pyridine compounds is somewhat different, but at the moment it is not well understood (Davidson et al., 2009).

аттрактантов отсутствовал (Davidson et al., 2008). Следует отметить, что метиловый и этиловый эфиры никотиновой и изоникотиновой кислоты наряду с ЗЦТ привлекают и другие виды трипсов, за исключением испанской популяции *F. occidentalis*. Эффективность отлова разных видов трипса конкретными пиридиновыми соединениями несколько отличается, но на настоящий момент недостаточно изучена (Davidson et al., 2009).

Одна из ведущих мировых компаний по производству продуктов комплексной борьбы с вредителями Koppert B.V. в диспенсере для трипсов Lurem-TR в качестве аттрактанта использует метилизоникотинат. Диспенсер изготавливается на промышленном оборудовании и представляет собой пластиковый дозатор с перфорированной мембраной для постепенного распространения аттрактанта. По данным изготовителя, добавление к синим липким ловушкам диспенсера Lurem-TR увеличивает отлов трипсов, при этом нежелательный отлов энтомофагов и насекомых-опылителей не увеличивается (Muvea et al., 2014).

Метилизоникотинат характеризуется высокой летучестью. При температуре 25 °C за сутки с ватных тампонов испаряется 320 мг вещества, из полиэтиленовых запаянных пакетов (150 мкм) – 40 мг, а из диспенсеров Lurem-TR – 76 мг (Nielsen, 2013). На наш взгляд, скорость испарения аттрактанта из диспенсеров является избыточной, что приводит к расточительному расходу вещества.

Цель настоящего исследования – оптимизировать скорость испарения метилникотината путем выбора конструкции диспенсера в лабораторных условиях и провести полевые испытания для изучения продолжительности и эффективности привлечения трипсов диспенсерами с нанесенным на них агрегационным феромоном и аттрактантом для отлова этих насекомых в условиях закрытого грунта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве диспенсеров использовали пластины 2 x 2,5 см, нарезанные из коммерчески доступных губчатых салфеток York 17,5 x 15,5 см, также использовали картон фильтровальный в пластинах, 22 x 35 мм. Метилникотинат (МН) наносили на диспенсеры в виде раствора в метаноле. Растворитель после нанесения в течение 1 часа полностью испарялся. Часть диспенсеров помещали в коммерчески доступные ziploc-пакеты 40 x 60 мм марки Zip-Loc из полиэтилена высокого давления толщиной 40 мкм. Другим вариантом упаковки было запаивание пластин с МН в одинарные или двойные полиэтиленовые пакеты. Для запаивания полиэтиленовых пакетов использовали полиэтилен высокого давления толщиной 200 мкм и вакуумный упаковщик Vacuum sealer DZ-280A. Опыты по испарению МН проводили в лабораторном шкафу со скоростью потока воздуха 0,1–0,2 м/с. Температура воздуха была в пределах 20–24 °C.

Полевые исследования по отлову ЗЦТ проводили с применением синих клеевых ловушек «Пластина», которые размещали в 4-кратной повторности. Ловушки изготовлены из двухстороннего ламинированного картона синего цвета размером 25 x 30 см с отверстием для подвески, с клеевым покрытием с обеих сторон и защитой клеевой

One of the world's leading integrated pest management companies, Koppert B.V. uses methyl isonicotinate as an attractant in the Lurem-TR thrips dispenser. The dispenser is manufactured on industrial equipment and is a plastic dispenser with a perforated membrane for the gradual distribution of the attractant. According to the manufacturer, the addition of the Lurem-TR dispenser to the blue sticky traps increases the catch of thrips, while the unwanted catch of entomophages and pollinating insects does not increase (Muvea et al., 2014).

Methyl isonicotinate is characterized by high volatility. At a temperature of 25 °C per day, 320 mg of the substance evaporates from cotton swabs, 40 mg from polyethylene sealed bags (150 µm), and 76 mg from Lurem-TR dispensers (Nielsen, 2013). In our opinion, the rate of evaporation of the attractant from dispensers is excessive, which leads to wasteful consumption of the substance.

The aim of this study is to optimize the evaporation rate of methyl nicotinate by selecting a dispenser design in the laboratory and to conduct field trials to study the duration and effectiveness of attracting thrips by dispensers coated with an aggregation pheromone and an attractant to catch these insects in greenhouse conditions.

MATERIALS AND METHODS

Dispensers used were 2 x 2.5 cm plates cut from commercially available 17.5 x 15.5 cm York sponges, and 22 x 35 mm filter board was also used. Methyl nicotinate (MN) was applied to dispensers as a solution in methanol. The solvent after application within 1 hour completely evaporated. Some of the dispensers were placed in commercially available 40 x 60 mm ZipLoc bags made of high pressure polyethylene 40 µm thick. Another packaging option was the sealing of MH plates in single or double polyethylene bags. For sealing plastic bags, high-pressure polyethylene 200 µm thick and a vacuum sealer Vacuum sealer DZ-280A were used. MN evaporation experiments were carried out in a laboratory cabinet with an air flow rate of 0.1–0.2 m/s. The air temperature was within 20–24 °C.

Field studies on the trapping of Western flower thrips were carried out using blue sticky traps "Plate", which were placed in 4 replicates. The traps are made of double-sided blue laminated cardboard measuring 25 x 30 cm with a hole for hanging, with an adhesive coating on both sides and protection of the adhesive surface with siliconized paper (Fig. 2). The dispenser with the applied mixture of attractant (MN) and aggregation pheromone was attached with a paper clip on the day of hanging the trap. The experiment was carried out on the territory of Moscow Oblast from 01.03.2021 to 25.06.2021 on the Madrilene F1 variety cucumber culture in a greenhouse with an area of 160 m². The traps were placed during planting at a height of 20 cm above the plant and lifted up as the plants grew. The air temperature in the greenhouse during the day was 20–22 °C, at night – 18–19 °C. As a control, "Plate" traps without a dispenser were used, which were also placed in 4-fold repetition (Fig. 3). The traps were placed in a checkerboard pattern on an area of 1 trap per 20 m².

поверхности силиконизированной бумагой (рис. 2). Диспенсер с нанесенной смесью аттрактанта (МН) и агрегационного феромона прикрепляли с помощью скрепки в день вывешивания ловушки. Опыт проводили на территории Московской области в период с 01.03.2021 по 25.06.2021 на культуре огурец сорта «Мадрилене F1» в теплице площадью 160 м². Ловушки размещали в период высадки рассады на высоте 20 см над растением и поднимали их вверх по мере роста растений. Температура воздуха в теплице днем составляла 20–22 °С, ночью – 18–19 °С. В качестве контроля применяли ловушки «Пластина» без диспенсера, которые также размещали в 4-кратной повторности (рис. 3). Ловушки размещали в шахматном порядке на площади 1 ловушка на 20 м². Размещение экспериментальных и контрольных ловушек чередовали. Учет количества привлеченных в ловушки насекомых проводили 1 раз в 7 дней. Материал с ловушек разбирали в лаборатории энтомологии испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР». Идентификация трипсов, пойманных в ловушки, проводилась сотрудниками лаборатории энтомологии испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР» Н.И. Ершовой и М.В. Ушковой.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распространенный прием снижения скорости испарения веществ с поверхности диспенсера – это помещение диспенсера в герметичный полиэтиленовый пакет. Использование пленок разной толщины или многослойных конструкций позволяет менять скорость испарения. Увеличение количества нанесенного вещества, соответственно, увеличивает время его полного испарения. Такие исследования опубликованы для метилизоникотината на медицинских марлевых тампонах, подушечках саше и в полиэтиленовых пакетах (Nielsen, 2013). Мы провели свои испытания с метилизоникотинатом на других различных носителях. Для опыта готовили по 4 диспенсера каждого варианта. Дозировки МН в разных вариантах были 150 и 450 мг. Размер пластин определялся их способностью впитать необходимое количество раствора. Для дозировки 150 мг брали пластины 5 см² (2 x 2,5 см). Для нанесения 450 мг вещества размер пластин пришлось увеличить до 12 см² (3 x 4 см). В случае фильтровального картона – это готовые пластины размером 2,2 x 3,5 см. Их сорбционная емкость оказалась достаточной для впитывания 450 мг МН. Диспенсеры развешивали на проволоке в лабораторном вытяжном шкафу на расстоянии 4 см друг от друга. Взвешивания проводили ежедневно, за исключением выходных и праздничных дней. Среднеквадратичное отклонение

The placement of experimental and control traps was alternated. The number of insects attracted to the traps was counted once every 7 days. The material from the traps was disassembled in the entomology laboratory of the testing expert center of the All-Russian Plant Quarantine Center. The identification of thrips caught in traps was carried out by N.I. Ershova and M.V. Ushkova.

RESULTS AND DISCUSSION

A common technique for reducing the rate of evaporation of substances from the surface of a dispenser is to place the dispenser in a sealed plastic bag. The use of films of different thicknesses or multilayer structures allows to change the evaporation rate. An increase in the amount of applied substance correspondingly increases the time of its complete evaporation. Such studies have been published for methyl isonicotinate on medical gauze swabs, sachet pads and plastic bags (Nielsen, 2013). We ran our trials with methyl nicotinate on various other vectors. For the experiment, 4 dispensers of each option were prepared. Dosages of MN in different variants were 150 and 450 mg. The size of the plates was determined by their ability to absorb the required amount of solution. For a dosage of 150 mg, plates of 5 cm² (2 x 2.5 cm) were taken. To apply 450 mg of the substance, the size of the plates had to be increased to 12 cm² (3 x 4 cm). In the case of filter boards, these are ready-made plates 2.2 x 3.5 cm in size. Their sorption capacity turned out to be sufficient to absorb 450 mg of MN. The dispensers were hung on a wire in a laboratory fume hood at a distance of 4 cm from each other. Weighing was carried out daily, except for weekends and holidays. The standard deviation from the mean was less than 5%. Mismatching



Рис. 2. Ловушка «Пластина» с диспенсером с аттрактантом и феромоном, используемая в опыте (фото А.Ю. Лобура)

Fig. 2. Trap "Plate" with a dispenser with an attractant and pheromone, used in the experiment (photo by A.Yu. Lobur)



Рис. 3. Ловушка «Пластина» контрольная без диспенсера (фото А.Ю. Лобура)

Fig. 3. Trap "Plate" control without a dispenser (photo by A.Yu. Lobur)

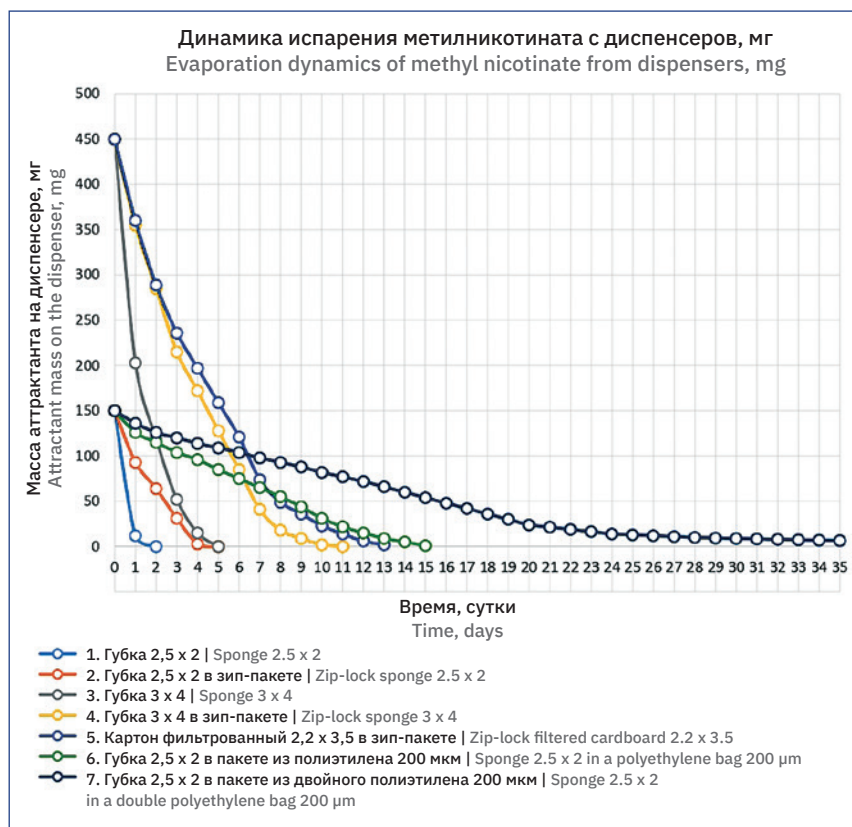


Рис. 4. Динамика испарения аттрактанта с диспенсеров (мг) в течение 35 суток

Fig. 4. Dynamics of attractant evaporation from dispensers (mg) during 35 days

от среднего значения было менее 5%. Выпадающие результаты выбраковывали. Причиной выбраковки было 2 случая разгерметизации запаянных пакетов. Результаты исследований представлены на рисунке 4. Количество исходно нанесенного на диспенсер вещества видно на оси ординат при значении времени, равном 0. Наблюдения вели до остаточного содержания вещества 1–2 мг. Дальнейшие взвешивания не проводились, так как они сопряжены с большими погрешностями.

Из анализа данных, представленных на рисунке 4, видно, что стойкого выделения МН с диспенсера длительностью более 30 дней можно достичь при использовании герметичного пакета из двойного полиэтилена толщиной 200 мкм при дозировке вещества 150 мг. Увеличение дозировки МН на однотипных конструкциях продлевало время его испарения. Поэтому подбором дозировки можно увеличить время работы диспенсера до всего времени вегетации.

Для того, чтобы установить продолжительность и эффективность работы диспенсеров в полевых условиях, были изготовлены диспенсеры, содержащие по 150 мг МН и 1 мг агрегационного феромона (нерил-2-метилбутаноат) и запаенные в пакеты из двойного полиэтилена толщиной 200 мкм.

Результаты полевых испытаний представлены в графическом виде на рисунках 5, 6, 7.

Исследования показали, что клеевые ловушки типа «Пластина» с агрегационным феромоном и аттрактантом в период с 01.03.2021 по 10.04.2021 (40 дней) отлавливали в 1,4 раза больше имаго ЗЦТ по сравнению с контрольными, а в период с 10.04 по 16.04 (с 40-го по 46-й день) среднее количество

failure was discarded. The reason for rejection was 2 cases of depressurization of sealed packages. The results of the studies are shown in Figure 4. The amount of the initially applied substance to the dispenser is visible on the y-axis at a time value of 0. Observations were made up to a residual substance content of 1–2 mg. Further weighings were not carried out, as they are associated with large errors.

From the analysis of the data presented in Figure 4, it can be seen that a stable release of MN from a dispenser lasting more than 30 days can be achieved using a sealed double polyethylene bag 200 µm thick at a dosage of the substance of 150 mg. An increase in the dosage of MN on the same type of structures extended the time of its evaporation. Therefore, by selecting the dosage, you can increase the time of the dispenser to the entire growing season.

To establish the duration and efficiency of the dispensers in the field, dispensers were made containing 150 mg of MN and 1 mg of the aggregation pheromone (neryl-2-methylbutanoate) and sealed in double polyethylene bags 200 µm thick.

The results of field tests are presented in graphical form in the figures 5, 6, 7.

Studies have shown that sticky traps of the “Plate” type with aggregation pheromone and an attractant in the period from 01.03.2021 to 10.04.2021 (40 days) caught 1.4 times more Western flower thrips adults compared to the control ones, and in the period from 10.04 to 16.04 (from the 40th to the 46th day) the average number of captured pests for experimental and control traps was the same and amounted to 11 Western flower thrips imagoes. Probably, after about 40 days, the dispensers stopped working due to the complete volatilization of the attractant.

The catchability of the “Plate” traps with aggregation pheromone and attractant in the experiment from 16.04.2021 to 28.05.2021 (42 days) was 1.9 times higher compared to the control ones. In the period from 28.05 to 05.06 (from the 42nd to the 50th day), the catchability of the experimental traps became approximately the same as the control ones. The effective operation of dispensers in the field for 40 days somewhat exceeded the results of laboratory experiments on the evaporation of MN (35 days). Possibly less than 1 mg MN still made the dispensers attractive.

In the summer season, the greatest number and activity of thrips is observed. During the period of the experiment from 05.06.2021 to 25.06.2021, the catchability of the “Plate” trap with aggregation pheromone and attractant was 1.6–1.9 times higher compared to control

отловленных вредителей на опытные и контрольные ловушки одинаковое и составляло по 11 экз. имаго ЗЦТ. Вероятно, примерно после 40 дней диспенсеры перестали работать вследствие полного улетучивания аттрактанта.

Уловистость ловушек «Пластина» с агрегационным феромоном и аттрактантом в опыте с 16.04.2021 по 28.05.2021 (42 дня) была выше в 1,9 раза по сравнению с контрольными. В период с 28.05 по 05.06 (с 42-го по 50-й день) уловистость опытных ловушек стала примерно одинаковой с контрольными. Эффективная работа диспенсеров в полевых условиях в течение 40 дней несколько превысила результаты лабораторных опытов по испарению МН (35 дней). Возможно, МН в количестве менее 1 мг все еще обеспечивал привлекательность диспенсеров.

В летний сезон наблюдается наибольшее количество и активность трипсов. В период проведения опыта с 05.06.2021 по 25.06.2021 уловистость ловушки «Пластина» с агрегационным феромоном и аттрактантом по сравнению с контрольными ловушками была выше в 1,6–1,9 раза. Последний опыт продолжался всего 20 дней, поэтому снижения эффективности работы диспенсеров не наблюдали.

В лаборатории энтомологии ФГБУ «ВНИИКР» была проведена идентификация видового и полового состава насекомых, пойманных на клеевые ловушки «Пластина» с диспенсером. Большинство пойманных насекомых были идентифицированы как западный цветочный трипс (*Frankliniella occidentalis*). Кроме ЗЦТ на всех ловушках присутствовал разноядный трипс (*Frankliniella intonsa*). Его количество было примерно в 2–3 раза меньше количества выловленных ЗЦТ. Результаты подсчета самцов и самок ЗЦТ представлены в таблице.

Превышение числа выловленных самок в сравнении с самцами ожидаемо и объясняется их большим количеством в популяции. При этом следует иметь в виду, что эти данные не устанавливают реальное соотношение самцов и самок, так как привлекательность ловушек с диспенсерами для самцов и самок не определялась и может быть разной. В дальнейшем мы планируем детальнее разобраться в этом вопросе.

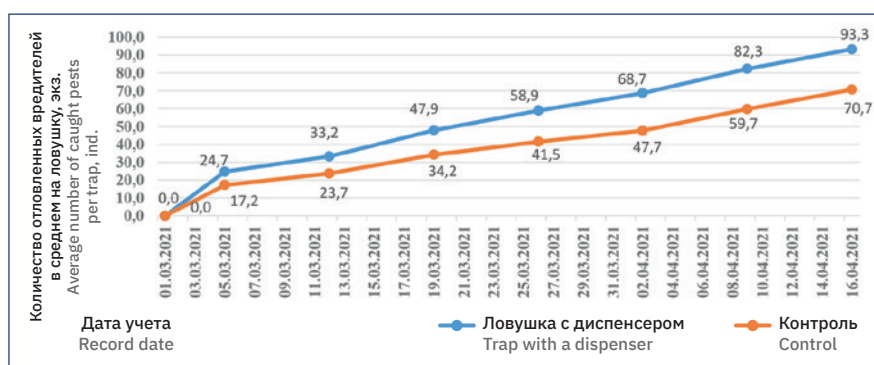


Рис. 5. Динамика отлова калифорнийского трипса в период 01.03–16.04.2021 (46 дней)

Fig. 5. Dynamics of catching Western flower thrips in the period 01.03–16.04.2021 (46 days)

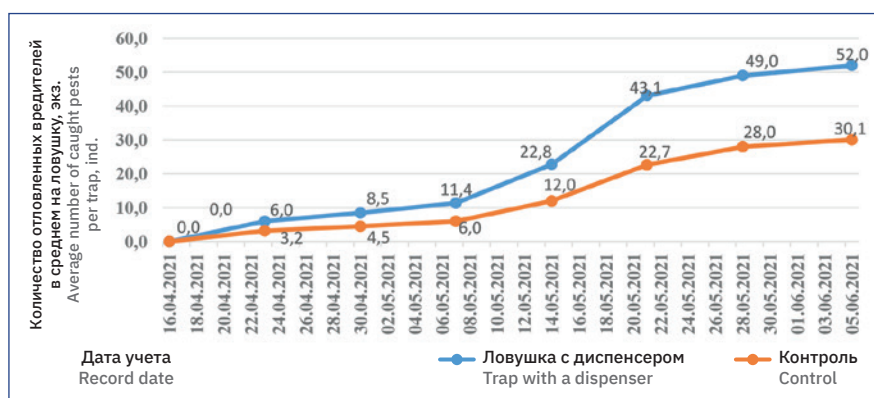


Рис. 6. Динамика отлова калифорнийского трипса в период 16.04–05.06.2021 (50 дней)

Fig. 6. Dynamics of catching Western flower thrips in the period 16.04–05.06.2021 (50 days)

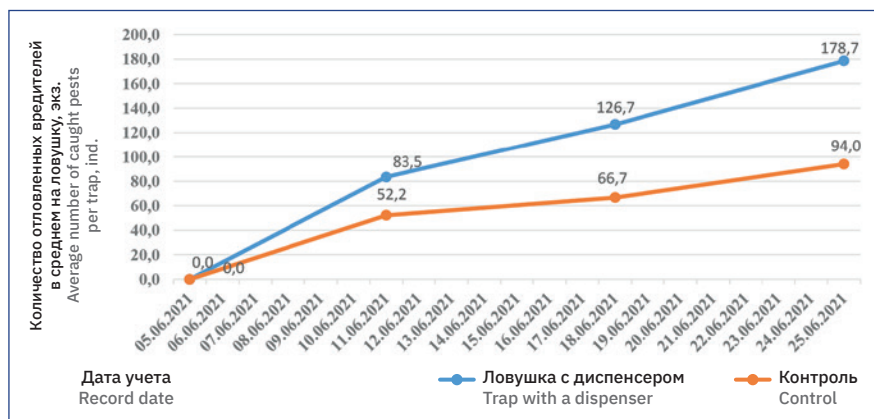


Рис. 7. Динамика отлова калифорнийского трипса в период 05.06–25.06.2021 (20 дней)

Fig. 7. Dynamics of catching Western flower thrips in the period 05.06–25.06.2021 (20 days)

traps. The last experiment lasted only 20 days, so there was no decrease in the efficiency of the dispensers.

In the Entomology laboratory of VNIICR, the identification of the species and sex composition of insects caught on the “Plate” sticky traps with a dispenser was carried out. Most of the insects caught were identified as Western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*). In addition to Western flower thrips, all traps contained the polyphagous thrips (*Frankliniella intonsa*).

Таблица
Количество и соотношение самцов и самок западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* на ловушках

Table
Number and ratio of male and female Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* in traps

№ ловушки Trap number	Самцы Males	Самки Females	Самки/самцы Females/males
1	29	34	1,17
2	31	41	1,32
3	165	172	1,04
4	97	128	1,32

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В лабораторных опытах установлено, что стойкого выделения метилникотината с диспенсера длительностью более 30 дней можно достичь при использовании герметичного пакета из двойного полиэтилена толщиной 200 мкм при дозировке вещества 150 мг.

В полевых испытаниях было установлено, что синие клеевые ловушки с аттрактантом и агрегационным феромоном, содержащие 150 мг метилникотината и 1 мг нерил-2-метилбутаноата, отлавливали в 1,4–1,9 раза больше *Frankliniella occidentalis* в сравнении с контрольными ловушками.

Ловушки с аттрактантом и агрегационным феромоном эффективно работали на протяжении 40 дней, что является приемлемым не только для мониторинга этого карантинного вредного организма, но и для борьбы с ним.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахатов А., Ижевский С. Вредители тепличных и оранжерейных растений. – М.: Товарищ. научн. издан. КМК, 2004, 307 с.
- Данкверт С., Маслов М., Магомедов У., Мордкович Я. Вредные организмы, имеющие карантинное фитосанитарное значение для Российской Федерации. – Воронеж: Научная книга, 2009, 449 с.
- Ижевский С., 1996. Западный цветочный трипс. – Защита и карантин растений, № 2: 34–35.
- Cao Y., Wang J., Germinara G., Wang L., Yang H., Gao Y. and Li C., 2020. Behavioral responses of *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae) to volatile compounds identified from *Gardenia jasminoides* Ellis (Gentianales: Rubiaceae). – *Insects*, № 11: 408. URL: <https://doi.org/10.3390/insects11070408>.
- Davidson M., Butler R. and Teulon D., 2009. Pyridine compounds increase thrips (Thysanoptera: Thripidae) trap capture in an onion crop. – *Journal of Economic Entomology*, 102 (4): 1468–1471.
- Davidson M., Perry N., Larsen L., Green V., Butler R. and Teulon D., 2008. 4-Pyridyl carbonyl compounds as Thrips Lures: Effectiveness for western flower thrips in Y-Tube bioassays. – *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (15): 6554–6561.
- Hamilton J., Hall D., Kirk W., 2005. Identification of a male-produced aggregation pheromone in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. – *Journal of Chemical Ecology*, 31 (6): 1369–1379.

Its amount was approximately 2–3 times less than the amount of Western flower thrips caught. The results of counting males and females of the Western flower thrips are presented in the table.

The excess of the number of caught females in comparison with males is expected and is explained by their large number in the population. However, it should be borne in mind that these data do not establish the real ratio of males and females, since the attractiveness of traps with dispensers for males and females has not been determined and may be different. In the future, we plan to look into this issue in more detail.

CONCLUSION

In laboratory experiments, it was found that a stable release of methyl nicotinate from a dispenser lasting more than 30 days can be achieved using a sealed double polyethylene bag 200 microns thick at a dosage of 150 mg of the substance.

In field trials, blue sticky traps with an attractant and aggregating pheromone containing 150 mg of methyl nicotinate and 1 mg of neryl 2-methylbutanoate were found to catch 1.4 to 1.9 times more *Frankliniella occidentalis* compared to control traps.

Traps with attractant and aggregation pheromone worked effectively for 40 days, which is acceptable not only for monitoring this quarantine pest, but also for its control.

REFERENCES

- Akhatov A., Izhevsky S. Pests of greenhouse and greenhouse plants [Vrediteli teplichnykh i oranzhereynykh rasteniy]. M.: Tovarith. scientific publishing house KMK, 2004, 307 p. (in Russian).
- Dankvert S., Maslov M., Magomedov U., Mordkovich Ya. Pests of quarantine phytosanitary significance for the Russian Federation [Vrednyye organizmy, imeyushchiye karantinnoye fitosanitarnoye znachenie dlya Rossiyskoy Federatsii]. Voronezh: Scientific book, 2009, 449 p. (in Russian).
- Izhevsky S. Western flower thrips [Zapadnyy tsvetochnyy trips]. *Plant Protection and Quarantine*, 1996; 2: 34–35 (in Russian).
- Cao Y., Wang J., Germinara G., Wang L., Yang H., Gao Y. and Li C. Behavioral responses of *Thrips hawaiiensis* (Thysanoptera: Thripidae) to volatile compounds identified from *Gardenia jasminoides* Ellis (Gentianales: Rubiaceae). *Insects*, 2020; № 11: 408. URL: <https://doi.org/10.3390/insects11070408>.
- Davidson M., Butler R. and Teulon D. Pyridine compounds increase thrips (Thysanoptera: Thripidae) trap capture in an onion crop. *Journal of Economic Entomology*, 2009; 102 (4): 1468–1471.
- Davidson M., Perry N., Larsen L., Green V., Butler R. and Teulon D. 4-Pyridyl carbonyl compounds as Thrips Lures: Effectiveness for western flower thrips in Y-Tube bioassays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008; 56 (15): 6554–6561.
- Hamilton J., Hall D., Kirk W. Identification of a male-produced aggregation pheromone in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Chemical Ecology*, 2005; 31 (6): 1369–1379.

8. Imai T., Maekawa M. and Murai T., 2001. Attractiveness of methyl anthranilate and its related compounds to the flower thrips, *Thrips hawaiiensis* (Morgan), *T. coloratus* Schmutz, *T. flavus* Schrank and *Megalurothrips distalis* (Karny) (Thysanoptera: Thripidae). – *Applied Entomology and Zoology*, 36 (4): 475–478.

9. Koschier E., 2008. Essential oil compounds for thrips control – a review. – *Natural Product Communications*, 3 (7): 1171–1182.

10. Muvea A., Waiganjo M., Kutima H., Osiemo Z., Nyasani J. and Subramanian S., 2014. Attraction of pest thrips (Thysanoptera: Thripidae) infesting French beans to coloured sticky traps with Lurem-TR and its utility for monitoring thrips populations. – *International Journal of Tropical Insect Science*, 34 (3): 197–206.

11. Nielsen M. Factors affecting the response of thrips to an olfactory cue. A thesis submitted in partial fulfilment of Doctor of Philosophy (Ph.D.). – Lincoln University, 2013, 157 p.

12. Penman D., Osborne G., Worner S., Chapman R. and McLaren G., 1982. Ethyl nicotinate: A chemical attractant for *Thrips obscuratus* (Thysanoptera: Thripidae) in stonefruit in New Zealand. – *Journal of Chemical Ecology*, 8 (10): 1299–1303.

13. Sampson C. Management of the western flower thrips on strawberry. Thesis submitted for the degree of Ph.D. – Keele University, 2014, 278 p.

14. Teulon D., Nielsen M., James D., Winkler S., McLachlan A., Perry N., 2007. Combination of two odour chemical lures does not increase thrips capture in field bioassays. – *New Zealand Plant Protection*, Vol. 60: 61–66.

15. Teulon D., Penman D., Ramakers P., 1993. Volatile chemicals for thrips (Thysanoptera: Thripidae) host-finding and applications for thrips pest management. – *Journal of Economic Entomology*, 86 (5): 1405–1415.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тодоров Николай Георгиевич, старший научный сотрудник – начальник отдела синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru.

Лобур Александр Юрьевич, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-2642-1324, e-mail: alex-lobur@yandex.ru.

Кулакова Наталья Ивановна, младший научный сотрудник лаборатории синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7746-5661, e-mail: nata7890@mail.ru.

Ершова Наталья Ивановна, ведущий агроном лаборатории энтомологии испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: ershova_nataliya@vniikr.ru.

Ушкова Мария Владиславовна, младший научный сотрудник лаборатории энтомологии испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com.

8. Imai T., Maekawa M. and Murai T. Attractiveness of methyl anthranilate and its related compounds to the flower thrips, *Thrips hawaiiensis* (Morgan), *T. coloratus* Schmutz, *T. flavus* Schrank and *Megalurothrips distalis* (Karny) (Thysanoptera: Thripidae). *Applied Entomology and Zoology*, 2001; 36 (4): 475–478.

9. Koschier E. Essential oil compounds for thrips control – a review. *Natural Product Communications*, 2008; 3 (7): 1171–1182.

10. Muvea A., Waiganjo M., Kutima H., Osiemo Z., Nyasani J. and Subramanian S. Attraction of pest thrips (Thysanoptera: Thripidae) infesting French beans to coloured sticky traps with Lurem-TR and its utility for monitoring thrips populations. *International Journal of Tropical Insect Science*, 2014; 34 (3): 197–206.

11. Nielsen M. Factors affecting the response of thrips to an olfactory cue. A thesis submitted in partial fulfilment of Doctor of Philosophy (Ph.D.). Lincoln University, 2013, 157 p.

12. Penman D., Osborne G., Worner S., Chapman R. and McLaren G. Ethyl nicotinate: A chemical attractant for *Thrips obscuratus* (Thysanoptera: Thripidae) in stonefruit in New Zealand. *Journal of Chemical Ecology*, 1982; 8 (10): 1299–1303.

13. Sampson C. Management of the western flower thrips on strawberry. Thesis submitted for the degree of Ph.D. Keele University, 2014, 278 p.

14. Teulon D., Nielsen M., James D., Winkler S., McLachlan A., Perry N. Combination of two odour chemical lures does not increase thrips capture in field bioassays. *New Zealand Plant Protection*, 2007; Vol. 60: 61–66.

15. Teulon D., Penman D., Ramakers P. Volatile chemicals for thrips (Thysanoptera: Thripidae) host-finding and applications for thrips pest management. *Journal of Economic Entomology*, 1993; 86 (5): 1405–1415.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Nikolai Todorov, Senior Researcher, Head of the Pheromones Synthesis and Application Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-8990-3411, e-mail: todor-kol@mail.ru.

Aleksander Lobur, PhD in Chemistry, Senior Researcher, Pheromones Synthesis and Application Laboratory, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-2642-1324, e-mail: alex-lobur@yandex.ru.

Natalya Kulakova, Junior Researcher, Pheromones Synthesis and Application Laboratory, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7746-5661, e-mail: nata7890@mail.ru.

Natalya Ershova, Leading agronomist, Entomology Laboratory of the Testing Expert Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: ershova_nataliya@vniikr.ru.

Maria Ushkova, Junior Researcher, Entomology Laboratory of the Testing Expert Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: ushkovamariavladislavovna@gmail.com.

Здесь может быть ваша статья!

Журнал «Фитосанитария. Карантин растений» приглашает авторов для публикации своих научных работ

Редакция журнала «Фитосанитария. Карантин растений» рада предложить вам возможность публикации ваших статей на страницах журнала. Наша цель – привлечение внимания к наиболее актуальным проблемам карантина растений специалистов сельского хозяйства и всех заинтересованных в этом людей.

В журнале рассматриваются основные направления развития науки и передового опыта в области карантина и защиты растений, публикуется важная информация о новых методах и средствах, применяемых как в России, так и за рубежом, а также о фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации.

Мы доносим до широкого круга читателей объективную научно-просветительскую и аналитическую информацию: мнения ведущих специалистов по наиболее принципиальным вопросам карантина растений, данные о значимых новейших зарубежных и отечественных исследованиях, материалы тематических конференций.

Редакция журнала «Фитосанитария. Карантин растений» приглашает к сотрудничеству как выдающихся деятелей науки, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работающих в области фитосанитарии, для обмена опытом, обеспечения устойчивого фитосанитарного благополучия и для новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития науки в области карантина растений
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и лабораторных исследований по карантину растений
- Обсуждение актуальных вопросов карантина растений

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках: русском и английском, содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 15 страниц, но не менее 3 (при одинарном интервале и размере шрифта 12). Оптимальный объем статьи – от 1500 слов. Статьи большего объема могут быть приняты по согласованию с редакцией журнала.

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ*

1. УДК, название статьи.
2. Инициалы, фамилия автора.
3. Место работы автора, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.
4. Аннотация (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков с пробелами.
5. Ключевые слова (5–10 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
6. Введение.
7. Материалы и методы.
8. Результаты и обсуждения.
9. Выводы/заключение.
10. Список литературы (т. е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): правила составления направляются автору по запросу.
11. Информация об авторах: приводится полная информация о каждом из авторов (место работы, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты).
12. Иллюстративные материалы (фотографии, рисунки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tiff или .jpeg (иллюстрации, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достоверное их воспроизведение типографским способом невозможно). Необходимо указать авторство каждой фотографии (Ф. И. О. фотографа или ссылку).
13. В редакцию необходимо предоставить две рецензии на статью («внешнюю» и «внутреннюю»).

** В таком же порядке и структуре предоставляется англоязычный перевод статьи.*

Работа должна быть предоставлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – одинарный, размер полей по 2 см, отступ в начале абзаца 1 см, форматирование по ширине. Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и помещаться на печатном поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

БОЛЕЕ ПОДРОБНЫЕ УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ:

Адрес: 140150, Россия, Московская область, г. Раменское, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
Контактное лицо: Зиновьева Светлана Георгиевна
Телефон: 8 (499) 707-22-27, e-mail: zinoveva-s@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)



– Научное и методическое обеспечение деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных ему учреждений в сфере карантина и защиты растений

– Установление карантинного фитосанитарного состояния подкарантинных материалов и территории Российской Федерации путем проведения лабораторных экспертиз и мониторингов

– Научное сотрудничество с национальными и международными организациями в области карантина растений

- Ведущее учреждение в Российской Федерации по синтезу и применению феромонов для выявления карантинных и некарантинных вредителей и борьбы с ними
- ФГБУ «ВНИИКР» – партнер международной программы по координации научных исследований в области карантина растений EUPHRESKO II (European PHYtosanitary RESearch COordination)
- В ФГБУ «ВНИИКР» создан и действует Технический комитет по стандартизации ТК 42 «Карантин и защита растений»
- Ведущее научно-методическое учреждение в составе Координационного совета по карантину растений государств – участников СНГ
- 19 филиалов на территории Российской Федерации
- Головное научно-методическое учреждение по реализации Плана первоочередных мероприятий, направленных на гармонизацию карантинных фитосанитарных мер государств – членов Таможенного союза

140150, Россия,
Московская область,
г. Раменское, р. п. Быково,
ул. Пограничная, д. 32

Тел./факс:
8 (499) 707-22-27

e-mail: office@vniikr.ru
<http://www.vniikr.ru>