



Метод идентификации
Septoria linicola

25

Патовары
Pseudomonas
syringae

50

Союзный короед *Ips amitinus* –
новый инвайдер
в Западной Сибири

60

Шмели-
помощники

71

ФИТОСАНИТАРИЯ. КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

PLANT HEALTH AND QUARANTINE

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

Русско-английский научный журнал

Июнь № 2 (10) 2022

СТАТЬЯ НОМЕРА:

Национальный доклад
о карантинном фитосанитарном
состоянии территории Российской
Федерации в 2021 году

2

Сорняки в пшенице
Пензенской области

14

Диагностика вирусов рода
Tobamovirus

39

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

МОНИТОРИНГ

Национальный доклад о карантинном фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации в 2021 году	National report on the quarantine phytosanitary state of the territory of the Russian Federation in 2021	2
--	--	---

Изучение сорных растений в пшенице, выращенной на территории Пензенской области, для оценки экспортного потенциала региона Е.А. СУХОЛОЗОВА, А.В. САФОНОВ, Е.А. СУХОЛОЗОВ	The study of weeds in wheat grown in Penza Oblast to assess the export potential of the region E.A. SUKHOLOZOVA, A.V. SAFONOV, E.A. SUKHOLOZOV	14
--	--	----

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Заболевание пасмо льна. Биологический метод идентификации <i>Septoria linicola</i> И.П. ДУДЧЕНКО, А.Г. ЩУКОВСКАЯ, Г.Н. ДУДЧЕНКО	Pasmo disease of flax. Biological method of identification of <i>Septoria linicola</i> I.P. DUDCHENKO, A.G. SCHUKOVSKAYA, G.N. DUDCHENKO	25
---	--	----

Диагностика вирусов рода <i>Tobamovirus</i> , заражающих пасленовые овощные культуры Е.Н. ЛОЗОВАЯ, Ю.Н. ПРИХОДЬКО, Т.С. ЖИВАЕВА, Ю.А. ШНЕЙДЕР, Е.В. КАРИМОВА	Diagnosis of <i>Tobamovirus</i> genus viruses infecting Solanaceae E.N. LOZOVAYA, YU.N. PRIKHODKO, T.S. ZHIVAEVA, YU.A. SHNEYDER, E.V. KARIMOVA	39
--	---	----

Анализ генетических отличий некоторых патоваров <i>Pseudomonas syringae</i> С.И. ПРИХОДЬКО, А.Б. ЯРЕМКО, Е.В. СТАРИКОВА, К.П. КОРНЕВ	Analysis of genetic differences of some <i>Pseudomonas syringae</i> pathovars S.I. PRIKHODKO, A.B. YAREMKO, E.V. STARIKOVA, K.P. KORNEV	50
--	---	----

Союзный короед <i>Ips amitinus</i> (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) – развитие очагов массового размножения в кедровых борах Западной Сибири Ю.И. ГНИНЕНКО, А.В. ЧЕМОДАНОВ, А.Г. РАКОВ, Р.И. ГИМРАНОВ, Е.А. ЧИЛАХСАЕВА	<i>Ips amitinus</i> (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) – outbreaks development in the Siberian pine forests of Western Siberia YU.I. GNINENKO, A.V. CHEMODANOV, A.G. RAKOV, R.I. GIMRANOV, E.A. CHILAKHSAEVA	60
--	--	----

БИОТЕХНОЛОГИИ

Хотите получить высокий урожай? Шмели помогут вам!	Want to get a high yield? Bumblebees will help you!	71
--	---	----

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: Сорные растения на краю поля озимой пшеницы (автор фото: Е.А. Сухолозова)
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: 02.06.2022
Дата выхода в свет: 20.06.2022

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: Weeds at the edge of a winter wheat field (photo: E.A. Sukholozova)
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 Агентство "Rospechat" – 81075
ООО Агентство "Kniga-Servis" – 33095
Printing house:
ООО "Poligrafichesky kompleks", 123298, ul. 3-ya Khoroshevskaya, 18, build. 1
Circulation: 3000 copies
Approved for print: 02/06/2022
Issue date: 20/06/2022

Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

Федеральная служба по ветеринарному
и фитосанитарному надзору

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ДОКЛАД о карантинном фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации в 2021 году

Москва, 2022

ВВЕДЕНИЕ



ациональный доклад о карантинном фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации в 2021 году подготовлен Россельхознадзором в соответствии со статьями 12 Федерального закона от 21 июля 2014 г. № 206-ФЗ «О карантине растений» (далее –

Федеральный закон «О карантине растений») на основании данных обследований и мониторинга карантинного фитосанитарного состояния территории Российской Федерации.

В соответствии со статьями 2 Федерального закона «О карантине растений» карантинное фитосанитарное состояние территории Российской Федерации – наличие или отсутствие на территории Российской Федерации карантинных объектов.

Порядок организации мониторинга карантинного фитосанитарного состояния территории Российской Федерации утвержден приказом Минсельхоза России от 23 января 2018 г. № 23 «Об утверждении порядка организации мониторинга карантинного фитосанитарного состояния территории Российской Федерации» в соответствии с частью 2 статьи 10 Федерального закона «О карантине растений».

Доклад содержит информацию о распространении карантинных объектов (вредных организмов, отсутствующих или ограниченно распространенных на территории Российской Федерации и внесенных в единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158 «Об утверждении единого перечня карантинных объектов Евразийского экономического союза»), об установлении и упразднении в 2021 году

карантинных фитосанитарных зон по каждому ограниченно распространенному карантинному объекту.

В Российской Федерации охрану территории страны от проникновения и распространения карантинных объектов обеспечивает Россельхознадзор. В соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 29 мая 2006 г. № 329 «Об официальной национальной организации по карантину и защите растений» Россельхознадзор является официальной национальной организацией по карантину и защите растений, ответственной за выполнение обязанностей, предусмотренных статьями IV Международной конвенции по карантину и защите растений, пересмотренный текст которой одобрен на 29-й сессии Конференции Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций в ноябре 1997 года.

Чаще всего карантинные вредные организмы проникают на территорию Российской Федерации с импортируемыми партиями различных видов сельскохозяйственной продукции.

В 2021 году Россельхознадзором проконтролировано более 12,8 млн тонн и 2,4 млрд штук различной подкарантинной продукции. При этом в импортируемой из 64 стран подкарантинной продукции выявлено 53 вида карантинных для Российской Федерации объектов в 7937 случаях.

Ввоз зараженной подкарантинной продукции в страну возможен также в ручной клади пассажиров и продовольственном запасе судов. Так, в 2021 году в багаже пассажиров и продовольственном запасе судов, прибывших в Российскую Федерацию из 10 стран, Россельхознадзором было выявлено 10 карантинных объектов в 660 случаях, включая такие виды, как западный цветочный (калифорнийский) трипс, восточная плодовая жорка,

табачная белокрылка, калифорнийская щитовка, красная померанцевая щитовка, золотистая картофельная нематода, ценьхрус длинноколючковый, амброзия полыннолистная, горчак ползучий, череда волосистая и другие.

Интродукция (проникновение, распространение и акклиматизация) карантинных вредных организмов на территорию Российской Федерации приводит к значительным потерям урожая сельскохозяйственных культур, большим затратам на мероприятия по борьбе с ними, а также к косвенным потерям – снижению качества урожая, сокращению возможностей экспорта и т. д.

РАЗДЕЛ 1. Распространение карантинных объектов на территории Российской Федерации в 2021 году

Карантинный объект – вредный организм, отсутствующий или ограниченно распространенный на территории страны, имеющий потенциальное экономическое значение и служащий объектом официальной борьбы.

На территории государств, входящих в Евразийский экономический союз (далее – ЕАЭС), с 1 июля 2017 года действует единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза, утвержденный Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158 «Об утверждении единого перечня карантинных объектов Евразийского экономического союза» (далее – Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС).

По состоянию на 31 декабря 2021 года Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС включает 237 карантинных объектов. В раздел I «Карантинные вредные организмы, отсутствующие на территории Евразийского экономического союза» входит 180 видов вредных организмов, в раздел II «Карантинные вредные организмы, ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза» – 57.

По сравнению с 2020 годом Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС увеличился на 3 вида: на основании результатов анализа фитосанитарного риска в раздел I «Карантинные вредные организмы, отсутствующие на территории Евразийского экономического союза» внесены вирус мозаики пегино (Peripo mosaic virus) и вирус коричневой морщинистости плодов томата (Tomato brown rugose fruit virus), а в раздел II «Карантинные вредные организмы, ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза» – вирус пятнистого увядания томата (Tomato spotted wilt virus).

Вирус коричневой морщинистости плодов томата впервые описан в 2015 году в Иордании. В 2018–2020 годах произошло стремительное расширение его ареала. В настоящее время он обнаружен в ряде стран Европы, Америки, Африки и Азии, многие из которых являются экспортерами семян и плодов томата в Российскую Федерацию. Основным путем распространения данного

вируса – международная торговля зараженными растениями, семенами и плодами томата и перца. Установлено, что потери урожая плодов томата могут достигать 70%. Расчет потенциально экономического ущерба показывает, что при заражении от 5 до 25% площадей предприятий, занимающихся промышленным производством плодов томата в Российской Федерации, прямые потери могут быть на уровне от 1,77 млрд рублей до 9,4 млрд рублей.

По способам распространения и биологическим свойствам к вирусу коричневой морщинистости плодов томата близок вирус мозаики пегино. Впервые этот вирус описан в Перу, в настоящее время он выявлен на томате в 32 странах Европы, Азии, Америки и Африки. Кроме томата вирус мозаики пегино способен заражать баклажаны и картофель. Потери урожая плодов томата в результате заражения данным вирусом могут достигать 15% и более. Происходит также снижение товарного качества плодов в результате уменьшения их величины, развития мраморности и пятнистости.

Большую потенциальную угрозу для сельского хозяйства Российской Федерации представляет и вирус пятнистого увядания (или бронзовости) томата. Данный вирус распространен на всех континентах и способен заражать более 800 видов растений различных ботанических семейств. К числу основных растений – хозяев этого вируса относятся практически все овощные культуры, большинство бобовых и зернобобовых культур, более 100 видов цветочных культур, а также подсолнечник, картофель, хлопчатник, виноград, табак и другие.

Вирус наиболее вредоносен для культур томата, перца, салата и целого ряда популярных цветочных растений.

На многих восприимчивых сельскохозяйственных культурах вирус пятнистого увядания томата вызывает сильное угнетение роста растений вплоть до их отмирания, существенное снижение урожая и его качества. Потери урожая плодов томата могут достигать 100%. Установлено, что ежегодные экономические потери для мирового сельского хозяйства от данного вируса составляют не менее 1 млрд долларов США.

В 2021 году указанные вирусы выявлены Россельхознадзором в партиях свежих плодов томата и перца, странами происхождения которых являлись 14 стран.

Карантинные объекты Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС относятся к следующим таксономическим группам:

- насекомые и клещи – 132;
- грибы – 37;
- вирусы и виroidы – 23;
- растения – 20;
- бактерии и фитоплазмы – 16;
- нематоды – 9.

Насекомые и клещи – наиболее многочисленная группа вредных организмов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС (55,7%).

На территории Российской Федерации по состоянию на 31 декабря 2021 года установлены карантинные фитосанитарные зоны по 49 карантинным объектам (21% общего числа карантинных объектов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС):

- 27 видам насекомых;
- 8 видам сорных растений;
- 6 видам грибов;
- 5 видам бактерий и фитоплазм;
- 2 видам нематод;
- 1 вирусу.

Из 57 объектов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС, входящих в раздел II «Карантинные вредные организмы, ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза» указанного перечня, в Российской Федерации распространены только 38 видов. По 19 карантинным объектам карантинные фитосанитарные зоны на территории Российской Федерации отсутствуют.

Наибольшее количество выявленных на территории Российской Федерации карантинных объектов относится к вредителям растений – 27 видов из 132 видов вредителей, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС.

Для предотвращения фитосанитарных рисков и своевременного выявления карантинных видов вредителей Россельхознадзором ежегодно проводится феромонный мониторинг территории Российской Федерации.

Феромонный мониторинг (феромониторинг) является одним из основных способов получения достоверных данных о распространении вредителей растений. Он основывается на применении синтетических феромонов насекомых-вредителей (феромоны насекомых – это биологически активные химические вещества, вырабатываемые ими для передачи информации особям своего вида и вызывающие у воспринимающих организмов специфические поведенческие или физиологические реакции).

В настоящее время феромониторинг – это наиболее точный способ обнаружения вредителей и оценки их численности по сравнению с другими известными методами, так как дает возможность оценить масштабы и локализацию очагов вредителей, изучить сезонную активность вредителя и таким образом определить сроки и объемы истребительных мероприятий, что заметно повышает их эффективность.

Если плотность выявленной популяции вредителя невысокая, но выше экономического порога вредоносности, с помощью феромонов также возможна борьба с ним путем массового отлова насекомых в ловушки или использования метода дезориентации.

В настоящее время при проведении феромонного мониторинга в Российской Федерации используются феромонные ловушки для выявления 20 карантинных видов вредителей, среди них такие виды, как американская белая бабочка,

восточная плодожорка, персиковая плодожорка, картофельная коровка, томатная моль, коричнево-мраморный клоп, эхинотрипс американский, клоп дубовая кружевница и другие.

Кроме того, при проведении обследований используются феромоны не только карантинных видов вредителей, но и более 30 опасных вредителей некарантинного значения, таких как яблонная плодожорка, сливовая плодожорка, каштановая минирующая моль, гроздевая листовертка, мельничная огневка, трогодерма черная, трогодерма изменчивая и другие.

В 2021 году в Российской Федерации начато производство и использование феромонных ловушек для выявления карантинного вида – азиатской ягодной дроздофилы, а также некарантинных видов – акациевой огневки, гранатовой огневки и капустной моли.

Количество применяемых в России феромонных ловушек за 10 лет выросло в 7 раз и в 2021 году достигло 150 тыс. штук для 20 видов карантинных вредных организмов.

В 2021 году по сравнению с 2020 годом значительно (на 4 430 055 га, или на 38%) увеличились площади обследований с использованием феромонных и цветных ловушек. Заметно увеличились площади обследований на посевах кукурузы, в лесных угодьях и лесодекоративных насаждениях, на посадках картофеля.

В результате проведенного в 2021 году феромонного мониторинга территории страны были выявлены 16 карантинных видов насекомых в 5828 случаях, среди них такие опасные вредители растений, как сибирский шелкопряд, азиатская хлопковая совка, восточная плодожорка, калифорнийская щитовка, картофельная моль и другие виды. Впервые с помощью ловушек выявлены клоп дубовая кружевница, эхинотрипс американский, картофельная коровка.

Второй группой по количеству выявленных на территории Российской Федерации карантинных объектов являются сорные растения – их выявлено 8 видов из 20 видов, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС.

Из 76 видов грибов, вирусов, бактерий и фитоплазм, входящих в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС, по состоянию на 31 декабря 2021 года карантинные фитосанитарные зоны на территории Российской Федерации установлены только по 12 видам. Кроме того, на территории Российской Федерации отсутствуют 7 из 9 карантинных видов нематод.

РАЗДЕЛ 2. Установление карантинных фитосанитарных зон на территории Российской Федерации в 2021 году

На территории Российской Федерации по состоянию на 31 декабря 2021 года установлены карантинные фитосанитарные зоны в отношении 49 видов карантинных объектов из 237 видов, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС.

Выявленные на территории Российской Федерации карантинные объекты вредят различным сельскохозяйственным, лесным и декоративным культурам.

Наибольшее количество видов, по которым установлены карантинные фитосанитарные зоны, относится к вредителям растений. По сравнению с декабрем 2020 года их количество выросло на 3 вида – установлено по 1 карантинной зоне в отношении картофельной коровки (*Epilachna vigintioctomaculata*), табачной белокрылки (*Bemisia tabaci*) и эхиноптрипса американского (*Echinothrips americanus*).

Наиболее распространенными по количеству и площадям установленных фитосанитарных зон являются 14 видов вредителей лесных и лесодекоративных культур. Среди данных видов наиболее распространены следующие вредители леса: черный сосновый усач (*Monochamus galloprovincialis*), малый черный еловый усач (*Monochamus sutor*), большой черный еловый усач (*Monochamus urusovi*), сибирский шелкопряд (*Dendrolimus sibiricus*), азиатский подвид непарного шелкопряда (*Lymantria dispar asiatica*), черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач (*Monochamus saltuarius*). В результате проведенных обследований и мониторинга в 2021 году по 7 видам вредителей (азиатскому подвиду непарного шелкопряда, большому черному еловому усачу, малому черному еловому усачу, черному бархатно-пятнистому усачу, черному крапчатому усачу, черному сосновому усачу и сибирскому шелкопряду) установлено 516 новых карантинных фитосанитарных зон на общей площади более 98,1 млн га.

Наименее распространены такие виды, как сосновый семенной клоп (*Leptoglossus occidentalis*), клоп платановая кружевница (*Corythucha ciliata*), клоп дубовая кружевница (*Corythucha arcuata*), ясеневая изумрудная златка (*Agrilus planipennis*), японский жук (*Popillia japonica*), восточная каштановая орехотворка (*Dryocosmus kuriphilus*).

Сосновый семенной клоп (*Leptoglossus occidentalis*) впервые выявлен на территории Российской Федерации в 2019 году. Данный вредитель поражает преимущественно различные виды сосен и некоторые другие хвойные растения. Известно, что в странах Северной Америки сосновый семенной клоп вредит лесному хозяйству, снижая всхожесть семян хвойных растений до 41%. Кроме того, он способен переносить гриб *Sphaeropsis sapinea*, вызывающий диплодиоз сосны – некроз хвои и коры побегов, а также усыхание сеянцев и молодых растений. На территории европейской и азиатской частей Российской Федерации указанный клоп способен занять ареал до северной границы лесостепной зоны страны, а также в горном лесном поясе Кавказа. В 2021 году ареал этого вредителя не увеличился.

Новыми для территории Российской Федерации вредителями лесных культур являются также 4 карантинных объекта: клоп дубовая кружевница (*Corythucha arcuata*), клоп платановая кружевница

(*Corythucha ciliata*), уссурийский полиграф (*Polygraphus proximus*), ясеневая изумрудная златка (*Agrilus planipennis*). Впервые очаги этих видов обнаружены в результате проведенных в 2018 году Россельхознадзором обследований и мониторинга.

К основным растениям, повреждаемым клопом дубовая кружевница, относятся различные виды дуба (*Quercus*). Данный вид способен не только существенно ослаблять повреждаемые деревья, но и вызывать их гибель. Экономические потери, связанные с реализацией мероприятий по механической, химической и биологической защите дубовых насаждений от вредителя, а также по их восстановлению, могут измеряться сотнями миллионов рублей. По результатам мониторинга, проведенного в 2021 году, ареал данного вида вырос – установлено 9 новых карантинных фитосанитарных зон на общей площади более 19,1 тыс. га.

Основными растениями – хозяевами клопа платановая кружевница являются растения рода Платан (*Platanus*). Вредитель наносит значительный ущерб насаждениям платана, вплоть до гибели поврежденных деревьев. На территории Российской Федерации данный карантинный объект способен заселить все районы, в которых произрастает его основное растение-хозяин. Заметный ущерб может проявиться в насаждениях платана в озеленительных посадках Крыма и отдельных регионах юга европейской части России. По данному вредителю в 2021 году установлена 1 новая карантинная фитосанитарная зона площадью 2,96 га.

Кормовыми растениями для уссурийского полиграфа являются различные виды пихт, сосен, в том числе кедр корейский (*Pinus koraiensis*), а также ель и лиственница. Установлено, что в Сибири заселенные короедом пихты погибают в течение 4–5 лет после заселения.

Большая часть пихтовых лесов в Российской Федерации произрастает вне естественного ареала уссурийского полиграфа. Именно в этих лесах может расселиться данный карантинный объект. Больше всего пихты произрастает в Красноярском крае, где в настоящее время уже выявлены очаги уссурийского полиграфа. В 2021 году по уссурийскому полиграфу установлено 10 новых карантинных фитосанитарных зон на общей площади около 19,52 тыс. га.

Второй группой по количеству выявленных на территории Российской Федерации карантинных вредных организмов являются 8 видов сорных растений. По состоянию на 31 декабря 2021 года наиболее распространены повилики (*Cuscuta* spp.), амброзия полыннолистная (*Ambrosia artemisiifolia*), горчак ползучий (*Acroptilon repens*) и амброзия трехраздельная (*Ambrosia trifida*).

По данным мониторинга территории страны, в 2021 году установлена 371 новая карантинная фитосанитарная зона на общей площади 19,57 тыс. га по 5 видам сорных растений – амброзии полыннолистной, амброзии трехраздельной, амброзии многолетней, горчаку ползучему и повиликам (*Cuscuta* spp.).

Благодаря проведенным мерам борьбы, в очагах карантинных сорных растений в 2021 году по сравнению с 2020 годом уменьшились площади карантинных фитосанитарных зон по 5 карантинным видам сорных растений. Не изменился ареал паслена трехцветкового и ценхруса длинноколочкового. Общая площадь карантинных фитосанитарных зон увеличилась только у амброзии полыннолистной.

Кроме карантинных видов сорных растений с зерновыми культурами связаны и другие ограничено распространенные вредные организмы перечня: соевая цистообразующая нематода (*Heterodera glycines*); гриб *Cercospora kikuchii*, вызывающий заболевание сои – пурпурный церкоспороз; возбудитель бактериального увядания (вилта) кукурузы *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*.

Впервые карантинные фитосанитарные зоны по соевой нематоды на территории Российской Федерации установлены в 2018 году в связи с обнаружением популяции данного вредителя на территории 1 муниципального района. В последующие 2 года нематода выявлена на территории уже 12 районов в 2 субъектах Российской Федерации.

Кроме того, с соей связаны 2 впервые установленные на территории Российской Федерации в 2019 году карантинные фитосанитарные зоны по пурпурному церкоспорозу. Обследования и мониторинг, проведенные в 2020 году, выявили новые очаги этого заболевания, по которому было установлено 8 новых карантинных фитосанитарных зон на площади 5345 га. В 2021 году ареал данного вида в стране не изменился.

Возбудитель бактериального увядания (вилта) кукурузы *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* впервые выявлен на территории Российской Федерации в 2019 году. Кукуруза является единственным культурным растением, поражаемым данной бактерией (сорта и гибриды сахарной, зубовидной, кремнистой кукурузы и кукурузы для производства попкорна). Основным способом интродукции заболевания в новые регионы являются зараженные семена кукурузы. Потери урожая восприимчивых сортов кукурузы в годы эпифитотий могут достигать 100%.

В 2021 году карантинное фитосанитарное состояние территории Российской Федерации по соевой цистообразующей нематоды, пурпурному церкоспорозу и бактериальному увяданию (вилту) кукурузы не изменилось – новые очаги не выявлены.

В результате мониторинга, проведенного в 2021 году, не выявлены многие карантинные виды, связанные с зерновыми и зернобобовыми культурами. Это имеет очень важное значение, так как Российская Федерация в настоящее время является одним из основных мировых производителей и экспортеров зерна. Вместе с тем сохраняется и импорт данной продукции из других стран. С зерновыми культурами связаны многие вредные организмы, включенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС. Потенциальное воздействие

данных видов для территории Российской Федерации оценено как большое – более 1 млрд рублей в год.

Высокий фитосанитарный риск при импорте зерновых культур связан с такими отсутствующими в Российской Федерации карантинными объектами, как возбудитель индийской головни пшеницы (*Neovossia indica*), возбудители диплоидоза кукурузы (*Stenocarpella macrospora*, *Stenocarpella maydis*), бактериального ожога риса (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*), бактериальной полосатости риса (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*), желтого слизистого бактериоза пшеницы (*Rathayibacter tritici*), капровый жук (*Trogoderma granarium*), западный кукурузный жук диабротика (*Diabrotica virgifera*). Высокий риск связан с интродукцией карантинных видов сорных растений – череды волосистой (*Bidens pilosa*), ипомеи ямчатой (*Ipomoea lacunosa*), ипомеи плющевидной (*Ipomoea hederacea*), бузинника пазушного (*Iva axillaris*) и других видов.

Кроме того, с импортируемыми в Российскую Федерацию зерновыми культурами на территорию страны могут попасть и новые виды карантинных объектов, внесенные в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС, связанные с данной продукцией и отсутствующие в Российской Федерации, – пшеничный клоп (*Blissus leucopterus*), широкохоботный амбарный долгоносик (*Caulophilus latinasus*), кукурузный трипс (*Frankliniella williamsi*), американская кукурузная совка (*Helicoverpa zea*).

К числу таких видов относится и кукурузная листовая совка (*Spodoptera frugiperda*), проявляющая в последние годы высокую инвазионную активность. Этот вредитель, широко распространенный в странах Северной и Южной Америки, повреждает многие зерновые, овощные и технические культуры. В 2016 году вид проник за пределы своего естественного ареала – он был выявлен в Нигерии (впервые на Африканском континенте). За короткое время кукурузная листовая совка распространилась практически по всей Африке – от Египта до Южно-Африканской Республики. В 2018 году кукурузная листовая совка появилась в Индии. В настоящее время она обнаружена во многих странах Юго-Восточной Азии.

В результате проведенного Россельхознадзором досмотра в 2021 году в 185 партиях зерна, импортируемых в Российскую Федерацию из 18 стран, выявлено 13 видов карантинных вредных организмов, в том числе такие отсутствующие в стране виды, как бразильская бобовая зерновка (*Zabrotes subfasciatus*), зерновки рода *Callosobruchus*, ипомея плющевидная (*Ipomoea hederacea*), ипомея ямчатая (*Ipomoea lacunosa*), череда дваждыперистая (*Bidens bipinnata*), череда волосистая (*Bidens pilosa*) и другие.

Из карантинных объектов, связанных с плодовыми и ягодными культурами, наиболее распространены в Российской Федерации:

– американская белая бабочка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 215 муниципальных районах 16 субъектов Российской Федерации на площади 423,4 тыс. га);

– калифорнийская щитовка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 199 муниципальных районах 15 субъектов Российской Федерации на площади 25,6 тыс. га);

– восточная плодожорка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 84 муниципальных районах 16 субъектов Российской Федерации на площади 36 тыс. га).

Серьезную угрозу для садоводства и питомниководства, а также лесного хозяйства и декоративного садоводства Российской Федерации представляет бактериальный ожог плодовых культур (*Erwinia amylovora*). Это карантинное заболевание впервые официально зарегистрировано на территории Российской Федерации в 2003 году в Калининградской области, а с 2007 года стало выявляться в Центральном, Южном, Северо-Кавказском и Приволжском федеральных округах, ежегодно расширяя площади очагов.

В Российской Федерации бактериальный ожог выявлялся в основном на культурных, декоративных и дикорастущих растениях родов Яблоня (*Malus*), Груша (*Pyrus*), Айва (*Cydonia*), Боярышник (*Crataegus*), а также в отдельных случаях на растениях рода Слива (*Prunus*) и рода Ирга (*Amelanchier*). Исследования, проведенные федеральным государственным бюджетным учреждением «Всероссийский центр карантина растений» в 2020 году, показали, что возбудитель начал внедряться в микробные сообщества растений рода Рябина (*Sorbus*), широко распространенных в лесах, лесополосах и декоративных насаждениях населенных пунктов страны.

В 2021 году выявлены новые очаги бактериального ожога плодовых культур и установлены 13 новых карантинных фитосанитарных зон на площади около 46 тыс. га. По состоянию на 31 декабря 2021 года общая площадь зон по данному заболеванию составила более 276,7 тыс. га.

В 2020 году впервые на территории страны выявлены 2 карантинных вида фитоплазм – фитопlasма истощения груши (*Candidatus Phytoplasma pyri*) и фитопlasма пролиферации яблони (*Candidatus Phytoplasma mali*).

Оба вида фитоплазм ограниченно распространены в ряде американских, африканских и азиатских стран, но чаще всего встречаются в европейских странах. В настоящее время патогены выявлены в 27 странах – членах Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений, включая страны – экспортеры посадочного материала в Российскую Федерацию: Германию, Италию, Нидерланды, Польшу, Сербию, Францию.

Основным путем распространения патогенов является международная торговля зараженным посадочным материалом – привитыми саженцами, подвоями и черенками, в которых возбудители могут в течение продолжительного периода времени сохраняться в латентном состоянии. В садах патогены распространяются через срастание корней здоровых и инфицированных деревьев и насекомыми-переносчиками.

Основным растением – хозяином фитоплазмы истощения груши является груша домашняя (*Pyrus communis*), большинство сортов которой являются восприимчивыми к заражению, и айва (*Cydonia oblonga*).

Вредоносность заболевания заключается в значительном снижении урожая плодов и в отмирании деревьев. При сильном заселении сада насекомыми-переносчиками снижение урожая достигает 80–95%, а отмирание деревьев может произойти в течение нескольких недель.

Пролиферация яблони считается одной из наиболее вредоносных болезней плодовых культур в Европе. Возбудитель поражает почти все сорта яблони. Кроме того, патоген выявлялся и на таких культурах, как вишня обыкновенная, черешня, груша европейская, абрикос, слива, персик, айва, боярышник, виноград и другие. Заболевание вызывает снижение содержания сахаров и аминокислот, уменьшение размера плодов до 50%, а также веса плодов на 63–74%. Общие потери урожая при развитии эпифитотий могут превышать 60%, а коммерческая ценность плодов может снижаться на 30–100%. В некоторых случаях зараженные молодые деревья могут полностью погибнуть.

В 2021 году новые очаги фитоплазмы истощения груши и фитоплазмы пролиферации яблони на территории Российской Федерации не выявлены.

В результате деятельности Россельхознадзора в 2021 году предотвращен ввоз в Российскую Федерацию 5261 партии плодовых и плодово-ягодных культур, зараженных 18 видами карантинных объектов, более чем из 30 стран мира.

Важное значение для экспортного потенциала страны в отношении семенного и продовольственного картофеля имеет распространение на ее территории карантинных объектов, связанных с данной культурой. По состоянию на 31 декабря 2021 года в Российской Федерации установлены карантинные фитосанитарные зоны только по 4 из 34 объектов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС, связанных с картофелем: картофельной моли (*Phthorimaea operculella*), картофельной коровке (*Epilachna vigintioctomaculata*), раку картофеля (*Synchytrium endobioticum*) и золотистой картофельной нематодой (*Globodera rostochiensis*).

Наибольшее распространение в стране имеет золотистая картофельная нематода: по состоянию на 31 декабря 2021 года карантинные фитосанитарные зоны установлены в 494 районах 51 субъекта Российской Федерации на общей площади 653,2 тыс. га. По данному виду в 2021 году установлено 27 новых карантинных фитосанитарных зон на площади более 62 тыс. га.

В результате проведенного мониторинга впервые в 2021 году на территории страны установлена 1 карантинная фитосанитарная зона по картофельной коровке площадью 2,3 га на территории Амурской области. Картофельная коровка – вредитель-полифаг, который повреждает более 30 дикорастущих и культурных видов растений из 13 семейств.

Наибольший вред наносит культурам из семейства Пасленовые. Распространена на Дальнем Востоке, в Китае (18 провинций), Японии, Северной и Южной Корее, Непале, Индии и во Вьетнаме. В Китае картофельная коровка является наиболее значимым вредителем картофеля. В России ограничено распространена в Хабаровском крае, Амурской области, Приморском крае, на островах Сахалин и Кунашир. На Дальнем Востоке России картофельная коровка также является главным вредителем картофеля. Взрослые особи и личинки повреждают листья, стебли и цветки, вызывая гибель растений. Потери урожая достигают 30%.

Результаты анализа фитосанитарного риска показывают, что серьезную угрозу для производства картофеля, томатов, перца, моркови, сельдерея представляет бактерия *Candidatus Liberibacter solanacearum* – отсутствующий на территории Российской Федерации возбудитель полосатости чипсов картофеля, или «зебра чип». В странах Северной и Южной Америки, в Новой Зеландии убытки от бактерии *Candidatus Liberibacter solanacearum* при производстве картофеля и томатов составляют миллионы долларов. В странах Европы данный возбудитель заболевания может вызывать полную потерю урожая моркови.

За последние несколько лет бактерия *Candidatus Liberibacter solanacearum* значительно расширила свой ареал и была выявлена на других растениях (в Израиле, Бельгии, Эстонии и Португалии – на полях моркови, в Великобритании – в семенах петрушки, на острове Норфолк – на томатах, в Канаде – в клубнях картофеля).

Последние исследования доказали, что гаплотипы возбудителя *Candidatus Liberibacter solanacearum*, поражающие морковь, могут также заражать картофель. В связи с этим возрастает опасность проникновения патогена в Российскую Федерацию при импорте картофеля из стран распространения бактерии, в частности из Финляндии, Франции, Великобритании. Путем проникновения патогена является также импорт семян моркови и сельдерея из Австрии, Бельгии, Франции, Финляндии и ряда других стран. Так, только в 2021 году этот патоген был выявлен в 6 импортируемых партиях семян моркови и петрушки, произведенных во Франции, Германии и Италии.

Из карантинных объектов закрытого грунта на территории Российской Федерации наиболее распространен западный цветочный (калифорнийский) трипс (*Frankliniella occidentalis*): площадь установленных карантинных фитосанитарных зон в 41 муниципальном районе 29 субъектов Российской Федерации увеличилась по сравнению с 2020 годом на 11,9 га и составила 567,2 га.

В 2019 году впервые в стране выявлен карантинный вредитель закрытого грунта – овощной листовой минер (*Liriomyza sativae*). Данный вид способен повреждать многие виды овощных и зеленных культур, особенно вредит томатам, огурцам и рассаде различных видов растений, значительно снижает их урожайность. В 2021 году, как

и в 2020-м, ареал указанного вредителя не изменился.

В 2021 году выявлено по 1 очагу новых видов вредителей закрытого грунта – табачной белокрылки (*Bemisia tabaci*) и эхинотрипса американского (*Echinothrips americanus*). Данные виды – широкие полифаги, повреждающие большое количество сельскохозяйственных и декоративных растений из многих семейств. Вредоносность табачной белокрылки связана также с ее способностью распространять более 100 опасных вирусов растений.

Две новые карантинные зоны общей площадью 1662 га установлены в 2021 году по опасному для многих сельскохозяйственных культур карантинному объекту – коричнево-мраморному клопу (*Halyomorpha halys*). Впервые на территории Российской Федерации этот вид выявлен в 2018 году. В местах своего природного обитания в странах Азии указанный клоп питается на 300 видах растений, предпочитая плодовые, ягодные и овощные культуры, в основном яблоню, сливу, вишню, черешню, грушу, виноград, шиповник, облепиху, томат, огурцы, перец, баклажаны, фасоль. Кроме того, клоп повреждает зерновые и зернобобовые культуры – кукурузу, пшеницу, сою, ячмень, горох, а также декоративные древесные культуры – магнолию, платан и другие.

По подсчетам специалистов, потенциальные потери при расселении коричнево-мраморного клопа только в Краснодарском и Ставропольском краях, Ростовской области и Республике Дагестан могут составить около 2 млрд рублей в год.

Информация о распространении карантинных объектов на территории Российской Федерации представлена в таблице 1.

РАЗДЕЛ 3. Упразднение карантинных фитосанитарных зон на территории Российской Федерации в 2021 году

В соответствии со статьей 19 Федерального закона «О карантине растений» решение об отмене карантинного фитосанитарного режима (упразднении карантинных фитосанитарных зон) принимается Россельхознадзором после ликвидации популяции карантинного объекта.

В результате применения карантинных фитосанитарных мер и мероприятий по локализации очагов и ликвидации популяций карантинных объектов в 2021 году упразднены карантинные фитосанитарные зоны по 30 ограниченно распространенным видам из 49 видов, зарегистрированных по состоянию на 31 декабря 2021 года на территории Российской Федерации.

Всего в 2021 году упразднены 6952 карантинные фитосанитарные зоны общей площадью 599,486 млн га, из них:

- 4625 карантинных фитосанитарных зон – по золотистой картофельной нематоде;
- 1531 карантинная фитосанитарная зона – по 5 видам сорных растений;
- 763 карантинные фитосанитарные зоны – по 18 видам вредителей;

Таблица 1

Установленные карантинные фитосанитарные зоны на территории Российской Федерации (по состоянию на 31 декабря 2021 года)

Название карантинного объекта	Количество субъектов Российской Федерации	Количество муниципальных районов и городских округов	Площадь установленных карантинных фитосанитарных зон, га
I. Насекомые			
1. Азиатский подвид непарного шелкопряда (<i>Lymantria dispar asiatica</i>)	8	118	56 744 703,18
2. Американская белая бабочка (<i>Hyphantria cunea</i>)	16	215	423 443,469
3. Большой черный еловый усач (<i>Monochamus urusovi</i>)	43	506	229 955 834,467
4. Восточная плодожорка (<i>Grapholita molesta</i>)	16	84	36 033,386
5. Восточная каштановая орехотворка (<i>Dryocosmus kuriphilus</i>)	1	1	22 351,2
6. Западный цветочный (калифорнийский) трипс (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	29	41	567,22966
7. Калифорнийская щитовка (<i>Quadraspidiotus perniciosus</i>)	15	199	25 597,32
8. Картофельная моль (<i>Phthorimaea operculella</i>)	8	41	10 056,269
9. Клоп дубовая кружевница (<i>Corythucha arcuata</i>)	4	9	70 149,35
10. Клоп платановая кружевница (<i>Corythucha ciliata</i>)	3	4	10 889,963
11. Коричнево-мраморный клоп (<i>Halyomorpha halys</i>)	4	10	244 600,537
12. Картофельная коровка (<i>Epilachna vigintioctomaculata</i>)	1	1	2,3
13. Малый черный еловый усач (<i>Monochamus sutor</i>)	48	568	219 247 102,789
14. Овощной листовой минер (<i>Liriomyza sativae</i>)	1	1	17,4
15. Персиковая плодожорка (<i>Carpocapsa sasakii</i>)	3	9	122,01
16. Сибирский шелкопряд (<i>Dendrolimus sibiricus</i>)	22	272	122 558 732,38
17. Сосновый семенной клоп (<i>Leptoglossus occidentalis</i>)	1	1	2440
18. Табачная белокрылка (<i>Bemisia tabaci</i>)	1	1	0,2629
19. Уссурийский полиграф (<i>Polygraphus proximus</i>)	7	54	43 764 354,16
20. Филлоксеры (<i>Viteus vitifoliae</i>)	5	20	4324,98
21. Черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач (<i>Monochamus saltuarius</i>)	6	83	29 787 604,3
22. Черный крапчатый усач (<i>Monochamus impluviatus</i>)	3	28	48 393 057
23. Черный сосновый усач (<i>Monochamus galloprovincialis</i>)	44	544	186 925 598,315
24. Эхиотрипс американский (<i>Echinothrips americanus</i>)	1	1	17,74847
25. Южноамериканская томатная моль (<i>Tuta absoluta</i>)	8	16	11 479,823
26. Японский жук (<i>Popillia japonica</i>)	1	1	2000
27. Ясенева изумрудная златка (<i>Agrilus planipennis</i>)	4	7	165 297,500
II. Нематоды			
1. Золотистая картофельная нематода (<i>Globodera rostochiensis</i>)	51	494	653 222,938
2. Соевая цистообразующая нематода (<i>Heterodera glycines</i>)	2	12	78 288,93
III. Грибы			
1. Аскохитоз хризантем (<i>Didymella ligulicola</i>)	1	1	0,05
2. Антракноз земляники (<i>Colletotrichum acutatum</i>) (= <i>C. xanthii</i>)	2	2	33,42
3. Белая ржавчина хризантем (<i>Puccinia horiana</i>)	1	2	0,08
4. Пурпурный церкоспороз (<i>Cercospora kikuchii</i>)	1	3	7200,4

Таблица 1. Продолжение

Название карантинного объекта	Количество субъектов Российской Федерации	Количество муниципальных районов и городских округов	Площадь установленных карантинных фитосанитарных зон, га
5. Рак картофеля (<i>Synchytrium endobioticum</i>)	4	10	695,776
6. Фомопсис подсолнечника (<i>Diaporthe helianthi</i>)	8	116	92 632
IV. Бактерии и фитоплазмы			
1. Бактериальный ожог плодовых культур (<i>Erwinia amylovora</i>)	18	58	276 671,838
2. Бактериальное увядание винограда (<i>Xylophilus ampelinus</i>)	2	3	741,33
3. Бактериальное увядание (вилт) кукурузы (<i>Pantoea stewartii</i>)	1	1	234,3
4. Фитоплазма истощения груши (<i>Candidatus Phytoplasma pyri</i>)	2	3	5118
5. Фитоплазма пролиферации яблони (<i>Candidatus Phytoplasma mali</i>)	1	3	17 590,74
V. Вирусы и вириды			
1. Потивирус шарки (оспы) слив (Plum pox potyvirus)	20	41	12 220,243
VI. Растения			
1. Амброзия многолетняя (<i>Ambrosia psilostachya</i>)	6	11	3792,764
2. Амброзия полыннолистная (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>)	31	469	7 262 210,913
3. Амброзия трехраздельная (<i>Ambrosia trifida</i>)	18	106	2 549 908,91
4. Горчак ползучий (<i>Rhaphanistrum repens</i>)	18	202	1 295 722,3
5. Паслен колючий (<i>Solanum rostratum</i>)	4	30	48 551,22
6. Паслен трехцветковый (<i>Solanum triflorum</i>)	3	8	428 536,27
7. Повилики (<i>Cuscuta</i> spp.)	59	686	2 806 436,887
8. Ценхрус длинноколючковый (<i>Cenchrus longispinus</i>)	4	13	617,481

– 26 карантинных фитосанитарных зон – по 4 видам грибных болезней растений;
 – 3 карантинные фитосанитарные зоны – по бактериальному ожогу плодовых культур;
 – 4 карантинные фитосанитарные зоны – по потивирусу шарки (оспы) слив.

Наибольшее количество упраздненных в 2021 году карантинных фитосанитарных зон, как и в 2020 году, пришлось на золотистую картофельную нематоду. В 2021 году их общая площадь составила 142,76 тыс. га.

На втором месте по количеству упраздненных карантинных фитосанитарных зон находятся 5 видов сорных растений – 1531 зона. При этом на 2 вида – амброзию полыннолистную (883 зоны) и повилики (400 зон) – приходится 84% упраздненных зон. Остальное количество упраздненных зон приходится на амброзию трехраздельную (220 зон), горчак ползучий (21 зона) и амброзию многолетнюю (7 зон). Общая площадь упраздненных по данным видам зон составляет более 316,1 тыс. га.

В 2021 году карантинные фитосанитарные зоны упразднены в отношении 18 вредителей растений. При этом 61% упраздненных карантинных

зон приходится на 4 вида вредителей плодовых культур – калифорнийскую щитовку, американскую белую бабочку, филлоксеру и персиковую плодоядку.

По общей площади упраздненных карантинных фитосанитарных зон лидируют вредители лесных культур – большой черный еловый усач (155,5 млн га), малый черный еловый усач (136,6 млн га), черный сосновый усач (88,5 млн га), черный крапчатый усач (66,4 млн га), сибирский шелкопряд (58,2 млн га), черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач (51,1 млн га).

В целом в результате обнаружения новых очагов карантинных вредных организмов и ликвидации ранее выявленных популяций в 2021 году по сравнению с 31 декабря 2020 года общие площади карантинных фитосанитарных зон не изменились по 11 ограниченно распространенным видам, уменьшились – по 25 видам, увеличились – по 10 видам, установлены карантинные фитосанитарные зоны по 3 новым видам.

Информация об упразднении карантинных фитосанитарных зон на территории Российской Федерации в 2021 году представлена в таблице 2.

Таблица 2

Упразднение карантинных фитосанитарных зон на территории Российской Федерации в 2021 году

Название карантинного объекта	Количество субъектов Российской Федерации	Количество муниципальных районов и городских округов	Площадь установленной карантинной фитосанитарной зоны, га
I. Насекомые			
1. Азиатский подвид непарного шелкопряда (<i>Lymantria dispar asiatica</i>)	3	18	13 805 940,62
2. Американская белая бабочка (<i>Hyphantria cunea</i>)	2	24	11 728,993
3. Большой черный еловый усач (<i>Monochamus urusovi</i>)	22	105	155 484 116,53
4. Восточная плодожорка (<i>Grapholita molesta</i>)	3	24	1346,35
5. Западный цветочный (калифорнийский) трипс (<i>Frankliniella occidentalis</i>)	16	22	106,338
6. Калифорнийская щитовка (<i>Quadraspidiotus perniciosus</i>)	6	32	20 662,119
7. Картофельная моль (<i>Phthorimaea operculella</i>)	3	5	1127,3
8. Клоп платановая кружевница (<i>Corythucha ciliata</i>)	1	2	35,782
9. Малый черный еловый усач (<i>Monochamus sutor</i>)	25	109	13 6602 609,41
10. Персиковая плодожорка (<i>Carposina niponensis</i>)	3	19	1022,82
11. Сибирский шелкопряд (<i>Dendrolimus sibiricus</i>)	13	64	58 192 247,8
12. Уссурийский полиграф (<i>Polygraphus proximus</i>)	1	1	28 835 784
13. Филлоксера (<i>Viteus vitifoliae</i>)	4	39	1078,438
14. Черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач (<i>Monochamus saltuarius</i>)	4	50	51 124 830
15. Черный крапчатый усач (<i>Monochamus impluviatus</i>)	3	5	66 399 475
16. Черный сосновый усач (<i>Monochamus galloprovincialis</i>)	28	105	88 518 066,574
17. Южноамериканская томатная моль (<i>Tuta absoluta</i>)	2	2	349,216
18. Ясенева изумрудная златка (<i>Agrilus planipennis</i>)	4	6	19 574,762
II. Нематоды			
1. Золотистая картофельная нематода (<i>Globodera rostochiensis</i>)	33	223	142 760,855
III. Грибы			
1. Антракноз земляники (<i>Colletotrichum acutatum</i>) (= <i>C. xanthii</i>)	2	2	38,926
2. Белая ржавчина хризантем (<i>Puccinia horiana</i>)	1	1	0,5
3. Рак картофеля (<i>Synchytrium endobioticum</i>)	1	1	0,6
4. Фомопсис подсолнечника (<i>Diaporthe helianthi</i>)	4	13	7439,01
IV. Бактерии и фитоплазмы			
1. Бактериальный ожог плодовых культур (<i>Erwinia amylovora</i>)	1	1	
V. Вирусы и вириды			
1. Потивирус шарки (оспы) слив (Plum pox potyvirus)	3	4	95,56
VI. Растения			
1. Амброзия многолетняя (<i>Ambrosia psilostachya</i>)	3	7	137,07
2. Амброзия полыннолистная (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>)	9	34	4746,913
3. Амброзия трехраздельная (<i>Ambrosia trifida</i>)	6	15	14 085,58
4. Повилики (<i>Cuscuta</i> spp.)	31	102	45 714,182
5. Горчак ползучий (<i>Acroptilon repens</i>)	7	10	251 431,02

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Всего в 2021 году упразднены 6952 карантинные фитосанитарные зоны общей площадью 599,486 млн га, из них:

- 4625 карантинных фитосанитарных зон – по золотистой картофельной нематоде;
- 1531 карантинная фитосанитарная зона – по 5 видам сорных растений;
- 763 карантинные фитосанитарные зоны – по 18 видам вредителей;
- 26 карантинных фитосанитарных зон – по 4 видам грибных болезней растений;
- 3 карантинные фитосанитарные зоны – по бактериальному ожогу плодовых культур;
- 4 карантинные фитосанитарные зоны – по потивирусу шарки (оспы) слив.

В 2021 году в результате применения карантинных фитосанитарных мер и мероприятий по локализации очагов и ликвидации популяций карантинных объектов упразднены карантинные фитосанитарные зоны по 30 ограниченно распространенным видам из 49 видов, зарегистрированных на 31 декабря 2021 года на территории Российской Федерации.

Наибольшее количество упраздненных в 2021 году карантинных фитосанитарных зон, как и в 2020 году, пришлось на золотистую картофельную нематоду. В 2021 году их общая площадь составила 142,76 тыс. га.

На втором месте по количеству упраздненных карантинных фитосанитарных зон находятся 5 видов сорных растений – 1531 зона. При этом на 2 вида – амброзию полыннолистную (883 зоны) и повилики (401 зона) – приходится 84% упраздненных зон.

В 2021 году карантинные фитосанитарные зоны упразднены в отношении 18 вредителей растений. При этом 61% упраздненных карантинных зон приходится на 4 вида вредителей плодовых культур – калифорнийскую щитовку, американскую белую бабочку, филлоксеру и персиковую плодожорку.

По общей площади упраздненных карантинных фитосанитарных зон лидируют вредители лесных культур – большой черный еловый усач (155,6 млн га), малый черный еловый усач (136,6 млн га), черный сосновый усач (88,5 млн га), черный крапчатый усач (66,4 млн га), сибирский шелкопряд (58,2 млн га), черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач (51,1 млн га).

Благодаря проведенным мерам борьбы, в очагах карантинных сорных растений в 2021 году по сравнению с 2020 годом уменьшились площади карантинных фитосанитарных зон по 5 карантинным видам сорных растений. Не изменился ареал паслена трехцветкового и ценхруса длинноколючкового. Общая площадь карантинных фитосанитарных зон увеличилась только у амброзии полыннолистной.

В 2021 году не изменилось карантинное фитосанитарное состояние территории Российской Федерации по соевой цистообразующей нематоде,

пурпурному церкоспорозу и бактериальному увяданию (вилту) кукурузы – новые очаги не выявлены.

На территории Российской Федерации по состоянию на 31 декабря 2021 года установлены карантинные фитосанитарные зоны по 49 карантинным объектам (21% общего числа карантинных объектов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС):

- 27 видам насекомых;
- 8 видам сорных растений;
- 6 видам грибов;
- 5 видам бактерий и фитоплазм;
- 2 видам нематод;
- 1 вирусу.

Наибольшее количество выявленных на территории Российской Федерации карантинных объектов относится к вредителям растений – 27 видов из 132 видов вредителей, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС.

Второй группой по количеству выявленных на территории Российской Федерации карантинных объектов являются сорные растения – их выявлено 8 видов из 20, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС.

Из 76 видов грибов, вирусов, бактерий и фитоплазм, входящих в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС, по состоянию на 31 декабря 2021 года карантинные фитосанитарные зоны на территории Российской Федерации установлены только по 12 видам. Кроме того, на территории Российской Федерации отсутствуют 7 из 9 карантинных видов нематод.

Наибольшее количество видов, по которым установлены карантинные фитосанитарные зоны, относится к вредителям растений. По сравнению с декабрем 2020 года их количество выросло на 3 вида – установлено по 1 карантинной зоне в отношении картофельной коровки, табачной белокрылки и эхинопса американского.

Наиболее распространенными по количеству и площадям установленных фитосанитарных зон являются 14 видов вредителей лесных и лесодекоративных культур. Среди данных видов наиболее распространены следующие вредители леса: черный сосновый усач, малый черный еловый усач, большой черный еловый усач, сибирский шелкопряд, азиатский подвид непарного шелкопряда, черный бархатно-пятнистый (хвойный) усач.

В результате проведенных обследований и мониторинга в 2021 году по 7 видам вредителей (азиатскому подвиду непарного шелкопряда, большому черному еловому усачу, малому черному еловому усачу, черному бархатно-пятнистому усачу, черному крапчатому усачу, черному сосновому усачу и сибирскому шелкопряду) установлено 516 новых карантинных фитосанитарных зон на общей площади более 98,1 млн га.

Второй группой по количеству выявленных на территории Российской Федерации карантинных вредных организмов являются 8 видов сорных растений. По состоянию на 31 декабря 2021 года наиболее распространены повилики, амброзия

полыннолистная, горчак ползучий и амброзия трехраздельная.

По данным мониторинга территории страны, в 2021 году установлена 371 новая карантинная фитосанитарная зона на общей площади 19,57 тыс. га по 5 видам сорных растений – амброзии полынно-листной, амброзии трехраздельной, амброзии многолетней, горчаку ползучему и повиликам.

Из карантинных объектов, связанных с плодовыми и ягодными культурами, наиболее распространены:

- американская белая бабочка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 215 муниципальных районах 16 субъектов Российской Федерации на площади 423,4 тыс. га);

- калифорнийская щитовка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 199 муниципальных районах 15 субъектов Российской Федерации на площади 25,6 тыс. га);

- восточная плодоярка (карантинные фитосанитарные зоны установлены в 83 муниципальных районах 16 субъектов Российской Федерации на площади 36 тыс. га).

Выявлены новые очаги и установлены 13 новых карантинных фитосанитарных зон опасного заболевания – бактериального ожога плодовых культур – на площади около 46 тыс. га. По состоянию на 31 декабря 2021 года общая площадь зон по данному заболеванию составила более 276,7 тыс. га.

По состоянию на 31 декабря 2021 года в Российской Федерации установлены карантинные фитосанитарные зоны только по 4 из 34 объектов Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС, связанных с картофелем: картофельной моли, картофельной коровке, раку картофеля и золотистой картофельной нематоде.

Наибольшее распространение в стране имеет золотистая картофельная нематода: по состоянию на 31 декабря 2021 года карантинные фитосанитарные зоны установлены в 494 районах 51 субъекта Российской Федерации на общей площади 653,2 тыс. га. В 2021 году по данному виду

установлено 27 новых карантинных фитосанитарных зон на площади более 62 тыс. га.

В результате проведенного мониторинга впервые в 2021 году на территории страны установлена 1 карантинная фитосанитарная зона по картофельной коровке площадью 2,3 га на территории Амурской области. Из карантинных объектов закрытого грунта на территории Российской Федерации наиболее распространен западный цветочный (калифорнийский) трипс: площадь установленных карантинных фитосанитарных зон в 41 муниципальном районе 29 субъектов Российской Федерации увеличилась по сравнению с 2020 годом на 11,9 га и составила 567,2 га.

Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС по состоянию на 31 декабря 2021 года включает 237 карантинных объектов. В раздел I «Карантинные вредные организмы, отсутствующие на территории Евразийского экономического союза» входит 180 видов вредных организмов, в раздел II «Карантинные вредные организмы, ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза» – 57.

По сравнению с 2020 годом Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС увеличился на 3 вида: в раздел I «Карантинные вредные организмы, отсутствующие на территории Евразийского экономического союза» внесены вирус мозаики пепино (*Pepino mosaic virus*) и вирус коричневой морщинистости плодов томата (*Tomato brown rugose fruit virus*), а в раздел II «Карантинные вредные организмы, ограниченно распространенные на территории Евразийского экономического союза» – вирус пятнистого увядания томата (*Tomato spotted wilt virus*).

В целом в результате обнаружения новых очагов карантинных вредных организмов и ликвидации ранее выявленных популяций в 2021 году по сравнению с 31 декабря 2020 года общие площади карантинных фитосанитарных зон не изменились по 11 ограниченно распространенным видам, по 25 видам – уменьшились, по 10 видам – увеличились. Установлены карантинные фитосанитарные зоны по 3 новым видам.

Изучение сорных растений в пшенице, выращенной на территории Пензенской области, для оценки экспортного потенциала региона

Е.А. СУХОЛОЗОВА¹, А.В. САФОНОВ²,
Е.А. СУХОЛОЗОВ³

^{1,2} Пензенский филиал ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), г. Пенза, Россия

³ Управление Россельхознадзора по Республике Мордовия и Пензенской области, г. Пенза, Россия

¹ ORCID 0000-0003-1272-4586,
e-mail: e_kobozeva@mail.ru

² e-mail: av.safonov@list.ru

³ e-mail: e.sukholozov@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Представлены результаты трехгодичного мониторинга (2019–2021 гг.) посевов и образцов зерна пшеницы Пензенской области. При обследовании 27 полей пшеницы молочной, молочно-восковой и восковой спелости, расположенных на территории 10 районов, отмечено 147 видов растений. При этом большинство из них произрастало по краям полей, но встречались и сильно засоренные в основной своей части посева, со значительным обилием сорных видов. Неудовлетворительная агротехника приводит к значительному регулярному пополнению почвенного банка семян сорных растений, которые сохраняют жизнеспособность в течение продолжительного времени. Следует отметить, что семена и плоды многих присутствовавших на полях пшеницы видов сорняков не отмечены в исследованных образцах зерна. Для того чтобы прогнозировать вероятность обнаружения плодов или семян сорных видов в продукции, необходимо при описании полей учитывать фенофазу развития сорных растений, стадию спелости пшеницы и предполагаемую дату уборки урожая.

Проанализированы 475 образцов зерна пшеницы урожая 2018–2020 гг. из 15 районов области. В исследованных образцах зерна выявлены плоды и семена 84 сорных видов. Из них наиболее часто встречались плоды и семена *Fallopia convolvulus* (L.) Á. Löve и *Convolvulus arvensis* L. Среди растений, обнаруженных как в посевах, так и в зерне, присутствует карантинный вид *Cuscuta campestris* Yunck.; только в зерне пшеницы были найдены семена *Ambrosia trifida* L. Сведения, полученные о сорных растениях пшеницы из конкретных районов Пензенской области, могут быть использованы для предварительной оценки соответствия пшеницы фитосанитарным требованиям

The study of weeds in wheat grown in Penza Oblast to assess the export potential of the region

E.A. SUKHOLOZOVA¹, A.V. SAFONOV²,
E.A. SUKHOLOZOV³

^{1,2} Penza Branch of FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIICR"), Penza, Russia

³ Regional Office of Rosselkhoz nadzor for the Republic of Mordovia and Penza Oblast, Penza, Russia

¹ ORCID 0000-0003-1272-4586,
e-mail: e_kobozeva@mail.ru

² e-mail: av.safonov@list.ru

³ e-mail: e.sukholozov@mail.ru

ABSTRACT

The results of a three-year monitoring (2019–2021) of wheat crops and grain samples in Penza Oblast are presented. When examining 27 fields of wheat of milk, milk-wax and wax ripeness, located on the territory of 10 districts, 147 plant species were noted. At the same time, most of them grew along the edges of the fields, but there were also crops heavily contaminated in their main part, with a significant abundance of weed species. Unsatisfactory agricultural practices lead to a significant regular replenishment of the soil bank of weed seeds, which remain viable for a long time. It should be noted that the seeds and fruits of many weed species present in wheat fields were not observed in the studied grain samples. In order to predict the probability of detecting fruits or seeds of weed species in products, it is necessary to take into account the phenophase of development of weeds, the stage of wheat ripeness and the expected date of harvest when describing the fields.

475 samples of wheat grain harvested in 2018–2020 were analyzed from 15 districts of the region. Fruits and seeds of 84 weed species were detected in the studied grain samples. Of these, *Fallopia convolvulus* (L.) Á. Löve and *Convolvulus arvensis* L. fruits and seeds were the most common. Among the plants detected both in crops and in grain, there is a quarantine species, *Cuscuta campestris* Yunck.; *Ambrosia trifida* L. achenes were found only in wheat grain. The data obtained on wheat weeds from specific areas of Penza Oblast can be used for a preliminary assessment

конкретных стран-импортеров при рассматривании потенциальных рынков сбыта растениеводческой продукции.

Ключевые слова. Обследование посевов, экспорт зерна, фитосанитарное состояние.



ВВЕДЕНИЕ

Пшеница занимает лидирующее положение в российском экспорте продукции растениеводства. В 2021 г. РФ поставила более 32 млн тонн пшеницы в 89 стран мира (АСД «Доступ-ТСВТ»). Как экспортер наша страна должна соблюдать требования фитосанитарной безопасности поставляемой ею растениеводческой продукции. При этом в перечне карантинных объектов стран-импортеров могут присутствовать характерные представители сорной флоры страны-отправителя. Так как пшеницу выращивают во многих регионах России, видится актуальной задачей изучение региональных особенностей сорного компонента пшеницы РФ для оценки экспортного потенциала этой культуры.

На территории Пензенской области пшеница является преобладающей сельскохозяйственной культурой, занимающей первое место по посевным площадям (Территориальный..., 2022), а также экспорту продукции (АСД «Доступ-ТСВТ»). В 2021 г. в регионе собрали более 1,5 млн тонн пшеницы (Министерство..., 2022), из которых около 60 тыс. тонн были отправлены на экспорт в Azerbaijan, Казахстан, Латвию (данные Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР»). В связи с этим представляется актуальным и необходимым установление фитосанитарного состояния выращиваемой на территории Пензенской области пшеницы в части присутствия карантинных сорных растений и выявление максимально полного списка возможных не регулируемых в России видов растений, встречающихся в ее посевах и зерне.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В 2019–2021 гг. были обследованы 27 полей пшеницы общей площадью 4977 га, расположенных в 10 районах Пензенской области (рис. 1, табл. 1). Большая часть исследованных посевов пшеницы располагалась в юго-западной и южной частях области (рис. 1), где сосредоточены основные посевные площади зерновых культур региона.

Посевы пшеницы исследовали с конца июня по конец августа в одну из фенологических фаз роста: молочной, молочно-восковой или восковой спелости. Обследование полей проводили по следующей схеме:

1. Учитывали все сорные растения по краям поля.
2. Прокладывали вглубь поля от двух до нескольких трансект длиной от 20 до 100 м (в зависимости от площади посевов) и учитывали сорные виды в основной части посевов.

of wheat compliance with the phytosanitary requirements of specific importing countries when considering potential markets for crop products.

Key words. Crop inspection, grain export, phytosanitary condition.

INTRODUCTION

Wheat occupies a leading position in Russian crop exports. In 2021, the Russian Federation supplied more than 32 million tons of wheat to 89 countries of the world (ASD “Dostup-TSVT”). As an exporter, Russia must comply with the phytosanitary safety requirements of the crop products it supplies. At the same time, typical representatives of the weed flora of the sending country may be present in the list of quarantine objects of the importing countries. Since wheat is grown in many regions of Russia, it seems an urgent task to study the regional characteristics of the weed component of wheat in the Russian Federation in order to assess the export potential of this crop.

On the territory of Penza Oblast, wheat is the predominant agricultural crop, ranking first in terms of sown area (Territory..., 2022), as well as product exports (ASD “Dostup-TSVT”). In 2021, more than 1.5 million tons of wheat were harvested in the region (Ministry..., 2022), of which about 60,000 tons were exported to Azerbaijan, Kazakhstan, and Latvia (data from the Penza Branch of FGBU “VNIICR”). In this regard, it seems relevant and necessary to establish the phytosanitary status of wheat grown in Penza Oblast in terms of the presence of quarantine weeds and to identify the most complete list of possible plant species not regulated in Russia detected in its crops and grain.

MATERIALS AND METHODS

In 2019–2021, 27 wheat fields with a total area of 4977 ha, located in 10 districts of Penza Oblast, were surveyed (Fig. 1, Table 1). Most of the studied wheat crops were located in the southwestern and southern parts of the region (Fig. 1), where the main sown areas of grain crops in the region are concentrated.

Wheat crops were studied from the end of June to the end of August in one of the phenological phases of growth: milky, milky-wax or waxy ripeness. The fields were surveyed according to the following scheme:

1. All weeds along the edges of the field were taken into account.
2. From 2 to several transects from 20 to 100 m long were laid deep into the field (depending on the area of crops) and weed species were taken into account in the main part of the crops.

Standard inspection schemes were not used due to the complex configuration of most of the studied fields.

Phenophase was noted in all the detected weeds in order to assess the likelihood of their seeds maturing by the time of harvesting.

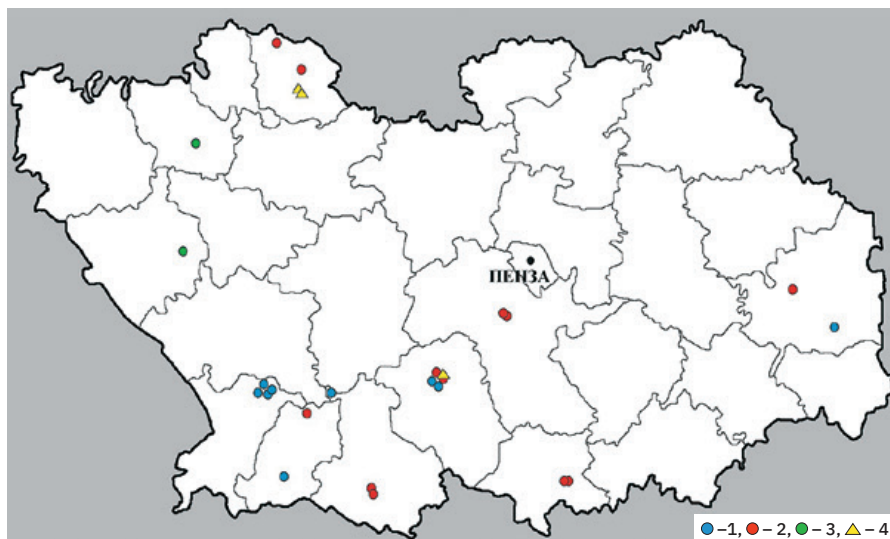


Рис. 1. Исследованные поля пшеницы.
Озимая пшеница: 1 – 2019 г.; 2 – 2020 г.;
3 – 2021 г. Яровая пшеница: 4 – 2020 г.

Fig. 1. Studied wheat fields.
Winter wheat: 1 – 2019; 2 – 2020;
3 – 2021. Spring wheat: 4 – 2020

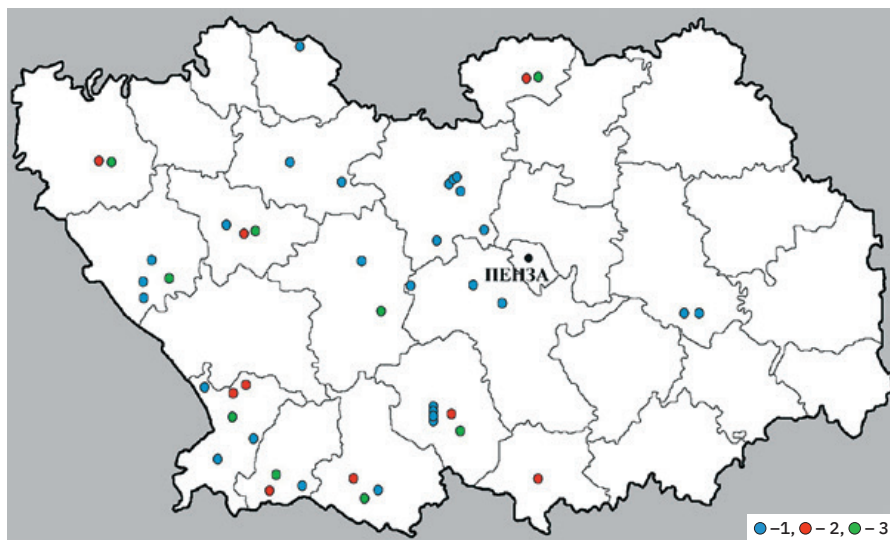


Рис. 2. Места отбора образцов пшеницы:
1 – 2019 г.; 2 – 2020 г.; 3 – 2021 г.

Fig. 2. Wheat sampling sites:
1 – 2019; 2 – 2020; 3 – 2021

Стандартные схемы осмотра не применялись по причине сложной конфигурации большинства исследованных полей.

У всех встреченных сорных растений отмечали фенофазу, чтобы оценить вероятность созревания их семян ко времени уборки урожая.

3. Виды определяли в полевых условиях визуально и в лаборатории по морфологическим признакам с помощью стереомикроскопа Stemi 2000 C, используя определители флоры Пензенской области, электронные ресурсы (Васюков, Саксонов, 2020; Маевский, 2014; Никитин, 1983; Солянов, 2001; Фисюнов, 1984; Плантариум; AgroAtlas; GBIF).

Все сорные виды растений, находившиеся в стадии цветения и плодоношения, были гербаризованы. Собранный таким образом материал использовали для окончательной идентификации плодов и семян, найденных в образцах зерна.

Для понимания, какое число и какие виды сорных растений, встреченных в посевах пшеницы, попадают в готовую зерновую продукцию, была изучена засоренность 475 образцов пшеницы урожая

3. Species were identified in the field visually and in the laboratory by morphological features using a Stemi 2000 C stereomicroscope, using Penza Oblast flora determinants, electronic resources (Vasyukov and Saxonov, 2020; Mayevsky, 2014; Nikitin, 1983; Solyanov, 2001; Fisyunov, 1984; Plantarium; AgroAtlas; GBIF).

All weed species of plants that were in the stage of flowering and fruiting were herbarized. The material collected in this way was used for the final identification of fruits and seeds detected in grain samples.

To understand how many and what weed species detected in wheat crops get into finished grain products, we studied the infestation of 475 samples of wheat harvested in 2018–2020, which arrived at the testing laboratory of the Penza Branch of the FGBU “VNIKR” from 15 districts of Penza Oblast (Fig. 2).

The samples were examined manually, carefully pouring the grain onto a parsing board in small portions and sorting it with a spatula using a forehead magnifier. Weed fruits and seeds were identified by morphological characters using a Stemi 2000 C stereomicroscope using literary sources and electronic resources (Volkova et al., 2007; Dobrokhoto, 1961; Maisuryan and Atabekova, 1978; Moskalenko and Yudin, 1999), and also previously identified own herbarium collections in the fruiting phase of 2019–2021.

RESULTS AND DISCUSSION

Comparative analysis of wheat grain harvest 2018–2020

475 wheat samples were studied: 2018 harvest – 81 samples, 2019 harvest – 197 samples and 2020 harvest – 197 samples.

As a result of a herbological study of wheat samples from the 2018 harvest, fruits and seeds of 51 weed species were identified, 64 species from the 2019 harvest, and 67 species from the 2020 harvest (Table 2). Thus, the total list of species, the fruits and seeds of which were noted in wheat grain for 3 years, includes 84 species (Table 2).

The analysis of the data obtained showed that most often and in large quantities in wheat samples of the 2018–2020 harvest, there were fruits and seeds *Setaria pumila* (Poir.) Roem. & Schult., *Fallopia convolvulus* (L.)

2018–2020 гг., поступивших в испытательную лабораторию Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР» из 15 районов Пензенской области (рис. 2).

Образцы исследовали методом ручного разбора, аккуратно высыпая зерно на разборочную доску небольшими порциями и перебирая шпателем с использованием налобной лупы. Идентификацию плодов и семян сорных растений проводили по морфологическим признакам с помощью стереомикроскопа Stemi 2000 C с использованием литературных источников и электронных ресурсов (Волкова и др., 2007; Доброхотов, 1961; Майсурян, Атабекова, 1978; Москаленко, Юдин, 1999), а также предварительно идентифицированных собственных гербарных сборов в фазе плодоношения 2019–2021 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ зерна пшеницы урожая 2018–2020 гг.

Исследовано 475 образцов пшеницы: урожая 2018 г. – 81 образец, урожая 2019 г. – 197 образцов и урожая 2020 г. – 197 образцов.

В результате герботологического исследования образцов пшеницы урожая 2018 г. выявлены плоды и семена 51 вида сорных растений, урожая 2019 г. – 64 видов, урожая 2020 г. – 67 видов (табл. 2). Таким образом, суммарный список видов, плоды и семена которых отмечены в зерне пшеницы за 3 года, включает 84 вида (табл. 2).

Анализ полученных данных показал, что наиболее часто и в большом количестве в образцах пшеницы урожая 2018–2020 гг. на протяжении всех трех лет встречались плоды и семена *Setaria pumila* (Poir.) Roem. & Schult., *Fallopia convolvulus* (L.) Á. Löve и *Convolvulus arvensis* L. (табл. 3). Встречаемость семян и плодов остальных видов сильно менялась по годам. Так, например, в урожае 2018 г. плоды *Elytrigia repens* (L.) Nevski встречались примерно в 30% исследованных образцов, в то время как более 70% образцов зерна урожая 2020 г. содержали его зерновки (табл. 3). И наоборот, семена *Chenopodium album* L., попадавшие более чем в 60% образцов пшеницы урожаев 2018 и 2019 гг., в образцах пшеницы урожая 2020 г. встречались в два раза реже (табл. 3).

В течение всех трех лет исследований в образцах зерна пшеницы находили семена карантинного для ЕАЭС вида – *Cuscuta campestris* Yunck. (табл. 2). Единоразово в зерне пшеницы урожая 2019 г. были найдены семена *Ambrosia trifida* L. (табл. 2). Данное единичное обнаружение требует

Á. Löve and *Convolvulus arvensis* L. (Table 3). The occurrence of seeds and fruits of other species varied greatly over the years. So, for example, in the harvest of 2018, *Elytrigia repens* (L.) Nevski fruits were found in approximately 30% of the studied samples, while more than 70% of grain samples from the 2020 harvest contained

Таблица 1
Исследованные поля пшеницы

Table 1
Studied wheat fields

Год Year	Район исследований Area of study	№ поля* Field №*	Координаты Coordinates	Площадь поля, га Field area, ha
2019	Тамалинский Tamalinsky	1	52.793800, 43.533050	293
		2	52.794480, 43.541114	498
		3	52.756430, 43.544510	237
		4	52.756590, 43.555340	232
	Сердобский Serdobsky	5	52.778050, 43.886540	54
	Бековский Bekovsky	6	52.486245, 43.552130	189
	Кузнецкий Kuznetsky	7	52.976224, 46.732462	56
	Колышлейский Kolyshleysky	8	52.820720, 44.450500	251
		9	52.812740, 44.464130	161
2020	Колышлейский Kolyshleysky	10	52.803357, 44.493202	221
		11	52.800996, 44.511333	111
		12	52.813050, 44.467390	408
	Бековский Bekovsky	13	52.698760, 43.794010	2
	Сердобский Serdobsky	14	52.397250, 44.081680	178
		15	52.395780, 44.08060	203
	Пензенский Penzensky	16	53.036166, 44.771721	238
		17	53.033895, 44.779172	363
	Малосердобинский Maloserdobinsky	18	52.474446, 45.206296	255
		19	52.474352, 45.209792	423
	Наровчатский Narovchatsky	20	53.73107, 43.67059	130
		21	53.93202, 43.60084	113
		22	53.767513, 43.641062	65
		23	53.766680, 43.644632	127
	Кузнецкий Kuznetsky	24	53.092770, 46.312259	50
2021	Башмаковский Bashmakovsky	25	53.216426, 43.066862	55
		26	53.219568, 43.110786	37
	Вадинский Vadinsky	27	53.628441, 43.290695	27

* Цветом выделены изученные поля яровой пшеницы, не выделены цветом поля озимой пшеницы.

* The studied fields of spring wheat are highlighted in color, the fields of winter wheat are not highlighted in color.

Таблица 2

Видовой состав растений, плоды и семена которых выявлены в зерне пшеницы урожая 2018–2020 гг.*

Table 2

The species composition of plants the fruits and seeds of which were found in wheat grain of the 2018–2020 harvest*

№ п/п №	Вид Species	Урожай пшеницы Wheat harvest		
		2018 г.	2019 г.	2020 г.
1	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	+	+	+
2	<i>Amaranthus albus</i> L.	+	–	–
3	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	+	+	+
4	<i>Ambrosia trifida</i> L.	–	+	–
5	<i>Apera spica-venti</i> (L.) P. Beauv.	–	+	+
6	<i>Arctium lappa</i> L.	+	–	–
7	<i>Arctium tomentosum</i> Mill.	–	+	+
8	<i>Avena fatua</i> L.	+	+	+
9	<i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.	+	–	–
10	<i>Brassica napus</i> L.	–	–	+
11	<i>Bromus arvensis</i> L.	–	+	+
12	<i>Bunias orientalis</i> L.	+	+	–
13	<i>Buglossoides arvense</i> (L.) I.M. Johnst.	+	+	+
14	<i>Camelina microcarpa</i> Andrz. ex DC.	+	+	+
15	<i>Camelina sativa</i> (L.) Crantz	+	+	+
16	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medikus	–	–	+
17	<i>Cannabis sativa</i> L.	+	+	–
18	<i>Chenopodium album</i> L.	+	+	+
19	<i>Centaurea cyanus</i> L.	+	+	+
20	<i>Cichorium intybus</i> L.	+	+	+
21	<i>Cirsium setosum</i> (Willd.) Besser	+	+	+
22	<i>Conium maculatum</i> L.	–	–	+
23	<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronquist	–	+	+
24	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	+	+	+
25	<i>Cuscuta campestris</i> Yunck.	+	+	+
26	<i>Cyclachaena xanthiifolia</i> (Nutt.) Fresen.	+	–	–
27	<i>Delphinium consolida</i> L.	+	+	+
28	<i>Draba nemorosa</i> L.	+	–	–
29	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	+	+	+
30	<i>Echium vulgare</i> L.	+	+	+
31	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	+	+	+
32	<i>Euphorbia virgata</i> Waldst. & Kit.	+	+	+
33	<i>Falcaria vulgaris</i> Bernh.	–	+	–
34	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	+	+	+
35	<i>Fumaria officinalis</i> L.	–	+	+
36	<i>Galega orientalis</i> Lam.	–	+	+
37	<i>Galium aparine</i> L.	+	+	+
38	<i>Galium verum</i> L.	–	+	+
39	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	+	+	+
40	<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	+	+	+
41	<i>Heracleum sibiricum</i> L.	–	–	+
42	<i>Hypericum perforatum</i> L.	–	–	+
43	<i>Lactuca serriola</i> L.	–	+	+
44	<i>Lappula squarrosa</i> (Retz.) Dumort.	+	+	+

проведения дополнительных обследований посевов пшеницы Пензенской области на присутствие этого вида.

Соотношение разных групп сорных растений, семена которых найдены в зерне пшеницы, осталось неизменным в течение трех лет. Так, преобладающими в составе сорной примеси были семена двудольных однолетних видов растений (56–66% от общего объема встреченных видов) (рис. 3). Самую незначительную группу составили однодольные многолетние растения (2–3% от общего объема встреченных видов), представленные преимущественно пыреем ползучим.

Сравнительный анализ состава сорных растений в зерне и посевах пшеницы

В связи с тем, что мы не можем провести прямого сравнения видового состава сорных растений конкретного поля и собранного непосредственно

its grains (Table 3). And vice versa, *Chenopodium album* L. seeds detected in more than 60% of wheat samples of 2018 and 2019 harvest, in wheat samples of the 2020 harvest were twice as rare (Table 3).

During all three years of research, seeds of a quarantine species for the EAEU were detected in wheat grain samples – *Cuscuta campestris* Yunck. (Table 2). *Ambrosia trifida* L. achenes were detected once in the wheat grain of the 2019 harvest (Table 2). This single detection requires additional surveys of wheat crops in Penza Oblast for the presence of this species.

The ratio of different groups of weeds, the seeds of which were detected in the grain of wheat, remained unchanged for three years. Thus, seeds of

Таблица 2
Продолжение

Table 2
Continuation

№ п/п №	Вид Species	Урожай пшеницы Wheat harvest		
		2018 г.	2019 г.	2020 г.
45	<i>Lathyrus tuberosus</i> L.	+	+	+
46	<i>Lathyrus pratensis</i> L.	–	–	+
47	<i>Linaria vulgaris</i> Mill.	+	+	+
48	<i>Lycopsis arvensis</i> L.	–	+	+
49	<i>Malva pusilla</i> Sm.	–	+	+
50	<i>Medicago lupulina</i> L.	–	–	+
51	<i>Medicago sativa</i> L.	–	+	+
52	<i>Melandrium album</i> (Mill.) Garcke	+	+	+
53	<i>Melilotus albus</i> Medikus	–	+	–
54	<i>Melilotus officinalis</i> (L.) Pallas	–	+	+
55	<i>Myosotis arvensis</i> (L.) Hill	–	–	+
56	<i>Oberna behen</i> (L.) Ikonn.	–	+	+
57	<i>Onobrychis arenaria</i> (Kit.) DC.	+	–	–
58	<i>Neslia paniculata</i> (L.) Desv.	+	+	+
59	<i>Panicum miliaceum</i> var. <i>ruderales</i> Kitag.	+	+	+
60	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	+	+	+
61	<i>Plantago major</i> L.	+	–	–
62	<i>Poa pratensis</i> L.	–	–	+
63	<i>Polygonum aviculare</i> L.	+	+	+
64	<i>Polygonum hydropiper</i> L.	+	+	–
65	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	+	+	+
66	<i>Rumex crispus</i> L.	+	+	+
67	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	+	+	+
68	<i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv.	+	+	+

№ п/п №	Вид Species	Урожай пшеницы Wheat harvest		
		2018 г.	2019 г.	2020 г.
69	<i>Silene dichotoma</i> Ehrh.	–	–	+
70	<i>Silene noctiflora</i> L.	–	+	+
71	<i>Sinapis alba</i> L.	+	–	–
72	<i>Sinapis arvensis</i> L.	+	+	+
73	<i>Stachys annua</i> (L.) L.	+	+	+
74	<i>Stachys palustris</i> L.	–	–	+
75	<i>Stachys recta</i> L.	–	+	–
76	<i>Stellaria graminea</i> L.	–	–	+
77	<i>Thlaspi arvense</i> L.	+	+	+
78	<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	+	+	+
79	<i>Verbascum nigrum</i> L.	–	+	–
80	<i>Vicia angustifolia</i> Reichard	+	+	+
81	<i>Vicia cracca</i> L.	–	+	+
82	<i>Vicia hirsuta</i> (L.) Gray	+	+	+
83	<i>Vicia villosa</i> Roth	–	+	–
84	<i>Viola arvensis</i> Murray	+	+	+

*  – цветом выделены виды, плоды и семена, выявленные в зерне пшеницы урожая 2019 г., которые не присутствовали в зерне урожая 2018 г.;
 – цветом выделены виды, плоды и семена, выявленные в зерне пшеницы урожая 2020 г., которые не присутствовали в зерне урожая 2018 и 2019 гг.

*  – the color highlights the species, fruits and seeds detected in the wheat grain of the 2019 harvest, which were not present in the grain of the 2018 harvest;
 – the color highlights the species, fruits and seeds detected in the wheat grain of the 2020 harvest, which were not present in the grain of the 2018 and 2019 harvests.

с него образца зерна, приводим только некоторые общие тенденции.

В 2020 г. наиболее часто (в 75% исследованных полей) в посевах пшеницы встречалось 8 видов сорных растений: *Tripleurospermum inodorum*, *Sonchus arvensis* L., *Artemisia vulgaris* L., *Cirsium setosum*, *Convolvulus arvensis*, *Delphinium consolida*, *Cichorium intybus*, *Tanacetum vulgare* L. (табл. 4). Из этих видов только вьюнок полевой также часто отмечался и в образцах зерна пшеницы урожая 2020 г. (87,8%).

Подобная ситуация отмечалась и в 2019 г. По нашему мнению, она может быть объяснена рядом причин.

1. Семена и плоды некоторых видов, преимущественно двудольных многолетних или двулетних растений (*Lactuca serriola*, *Cichorium intybus*, *Cirsium setosum*, *Euphorbia virgata*, *Sonchus arvensis*), часто встречавшихся на полях озимой пшеницы, либо не попали в исследованное зерно вообще, либо встречались

dicotyledonous annual plant species were predominant in the composition of the weed admixture (56–66% of the total volume of species encountered) (Fig. 3). The smallest group consisted of monocotyledonous perennial plants (2–3% of the total volume of species encountered), represented mainly by *Elytrigia repens* (L.) Nevski.

Comparative analysis of the composition of weeds in grain and wheat crops

Since we cannot make a direct comparison of the species composition of weeds in a particular field and a grain sample collected directly from it, we present only some general trends.

Таблица 3

Виды сорных растений, семена и плоды которых наиболее часто встречались в образцах зерна пшеницы урожая 2018–2020 гг.

Table 3

The species composition of plants the fruits and seeds of which were found in wheat grain of the 2018–2020 harvest

Пшеница урожая 2018 г. 2018 wheat harvest			Пшеница урожая 2019 г. 2019 wheat harvest			Пшеница урожая 2020 г. 2020 wheat harvest		
№ п/п №	Вид Species	Встречае- мость, % Occur- rence, %	№ п/п №	Вид Species	Встречае- мость, % Occur- rence, %	№ п/п №	Вид Species	Встречае- мость, % Occur- rence, %
1	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	91,4	1	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	99,0	1	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	87,8
2	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	88,9	2	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	95,9	2	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	79,2
3	<i>Chenopodium album</i> L.	69,1	3	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	81,2	3	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	72,1
4	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	66,7	4	<i>Avena fatua</i> L.	76,7	4	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	65,0
5	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	60,5	5	<i>Lappula squarrosa</i> (Retz.) Dumort.	62,4	5	<i>Galium aparine</i> L.	62,9
6	<i>Delphinium consolida</i> L.	51,2	6	<i>Chenopodium album</i> L.	60,4	6	<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	51,8
7	<i>Galium aparine</i> L.	48,2	7	<i>Delphinium consolida</i> L.	49,2	7	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	39,6
8	<i>Avena fatua</i> L.	48,1	8	<i>Setaria viridis</i> (L.) P. Beauv.	39,1	8	<i>Thlaspi arvense</i> L.	39,1
9	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	39,5	9	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	36,0	9	<i>Delphinium consolida</i> L.	34,5
10	<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	35,8	10	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	34,0	10	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	34,5
11	<i>Euphorbia virgata</i> Waldst. & Kit.	34,6	11	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	32,5	11	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	32,5
12	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	33,3	12	<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	32,0	12	<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	32,5
						13	<i>Chenopodium album</i> L.	30,5
						14	<i>Lappula squarrosa</i> (Retz.) Dumort.	29,9

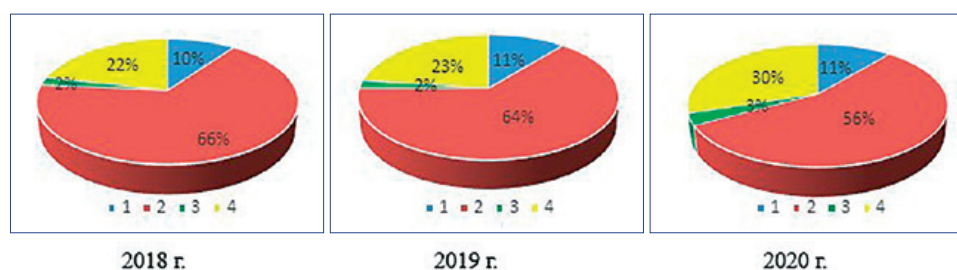


Рис. 3. Группы видов растений, плоды и семена которых выявлены в зерне пшеницы урожая 2018–2020 гг., %: 1 – однодольные однолетние растения; 2 – двудольные однолетние растения; 3 – однодольные многолетние растения; 4 – двудольные многолетние растения

Fig. 3. Groups of plant species, the fruits and seeds of which were found in the wheat grain of the 2018–2020 harvest, %: 1 – monocotyledonous annuals; 2 – dicotyledonous annuals; 3 – monocotyledonous perennials; 4 – dicotyledonous perennials

Таблица 4

Виды сорных растений, которые наиболее часто встречались на полях и в зерне пшеницы в 2020 г.

Table 4

Weed species most often detected in fields and in wheat grain in 2020

Поля пшеницы, 2020 г. Wheat fields, 2020 г.			Зерно пшеницы урожая 2020 г. 2020 harvest wheat grain		
№ п/п №	Вид Species	Встречае- мость, % Occurrence, %	№ п/п №	Вид Species	Встречае- мость, % Occurrence, %
1	<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	100	1	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	87,8
2	<i>Sonchus arvensis</i> L.	91,7	2	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	79,2
3	<i>Artemisia vulgaris</i> L.	83,3	3	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	72,1
4	<i>Cirsium setosum</i> (Willd.) Besser	83,3	4	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	65,0
5	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	83,3	5	<i>Galium aparine</i> L.	62,9
6	<i>Delphinium consolida</i> L.	83,3	6	<i>Galeopsis bifida</i> Boenn.	51,8
7	<i>Cichorium intybus</i> L.	75	7	<i>Avena fatua</i> L.	39,6
8	<i>Tanacetum vulgare</i> L.	75	8	<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv.	39,6
9	<i>Euphorbia virgata</i> Waldst. & Kit.	66,7	9	<i>Thlaspi arvense</i> L.	39,1
10	<i>Bromopsis inermis</i> (Leyss.) Holub	58,3	10	<i>Delphinium consolida</i> L.	34,5
11	<i>Bromus arvensis</i> L.	58,3	11	<i>Persicaria scabra</i> (Moench) Moldenke	34,5
12	<i>Chenopodium album</i> L.	58,3	12	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	32,5
13	<i>Plantago major</i> L.	58,3	13	<i>Tripleurospermum inodorum</i> (L.) Sch. Bip.	32,5
14	<i>Polygonum aviculare</i> L.	58,3	14	<i>Chenopodium album</i> L.	30,5
15	<i>Viola arvensis</i> Murray	58,3	15	<i>Lappula squarrosa</i> (Retz.) Dumort.	29,9
16	<i>Agrimonia eupatoria</i> L.	50			
17	<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	50			
18	<i>Carduus acanthoides</i> L.	50			
19	<i>Elytrigia repens</i> (L.) Nevski	50			
20	<i>Galeopsis ladanum</i> L.	50			
21	<i>Galium aparine</i> L.	50			
22	<i>Lactuca serriola</i> L.	50			
23	<i>Fallopia convolvulus</i> (L.) Á. Löve	50			
24	<i>Rumex crispus</i> L.	50			
25	<i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. & Schult.	50			
26	<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	50			

в образцах редко из-за несовпадения сроков плодоношения сорных видов со временем уборки урожая.

2. Значительная летучесть некоторых плодов растений, часто встречавшихся на полях (например, *Lactuca serriola* и *Sonchus arvensis*), также обуславливает их редкое присутствие в зерне.

3. Некоторые сорные виды, такие как *Artemisia vulgaris*, *Cichorium intybus*, *Tanacetum vulgare* и др., регулярно встречаются в посевах пшеницы, но произрастают в основном по краю полей, не попадая в основной массив зерна, так как при соблюдении технологии возделывания край поля

In 2020, 8 species of weeds were most often detected in wheat crops (in 75% of the studied fields): *Tripleurospermum inodorum*, *Sonchus arvensis* L., *Artemisia vulgaris* L., *Cirsium setosum*, *Convolvulus arvensis*, *Delphinium consolida*, *Cichorium intybus*, *Tanacetum vulgare* L. (Table 4). Of these species, only *Convolvulus arvensis* has also been frequently observed in 2020 wheat grain samples (87,8%).

A similar situation was observed in 2019. In our opinion, it can be explained by a number of reasons.

1. Seeds and fruits of some species, mainly dicotyledonous perennials or biennials (*Lactuca serriola*, *Cichorium intybus*, *Cirsium setosum*, *Euphorbia virgata*, *Sonchus arvensis*), were often detected in the fields of winter wheat, either did not get into the studied grain at all, or were rarely found in the samples due to the discrepancy between the timing of the fruiting of weed species and the time of harvesting.

2. Significant volatility of some fruits of plants often found in the fields (for example, *Lactuca serriola* and *Sonchus arvensis*), also accounts for their rare presence in grain.

3. Some weed species, such as *Artemisia vulgaris*, *Cichorium intybus*, *Tanacetum vulgare*, etc., are regularly detected in wheat crops, but grow mainly along

предварительно обкашивается перед основной уборкой урожая (рис. 4d).

Итоги трехгодичного исследования посевов пшеницы

В ходе трехгодичного мониторинга полей пшеницы выявлено 147 видов сорных растений, которые были сосредоточены прежде всего в краевой части исследованных полей. В сильно засоренных посевах значительное число сорных видов произрастало и в краевой, и в основной частях агроценоза (рис. 4b). Последний факт говорит о ненадлежащем возделывании полей, отсутствии гербицидной обработки, отказе от использования чистого семенного материала и т. д. Значительное число видов сорных растений и их обилие на полях возделываемых культур, в том числе и пшеницы, приводят к регулярному пополнению почвенного банка семян сорняков. При этом семена многих видов, в том числе карантинных, могут сохраняться в почве десятки лет, не теряя жизнеспособности.

В 2019–2020 гг. в исследованных полях пшеницы выявлены и описаны очаги *Cuscuta campestris*. В 2021 г. карантинные виды на изученных полях не обнаружены.

Помимо травянистых растений, в составе сорной растительности пшеничных полей присутствовали и древесные виды (например, проростки

the edge of the fields, not getting into the main mass of grain, since, if the cultivation technology is followed, the edge of the field is pre-mowed before the main harvest (Fig. 4d).

Results of a three-year study of wheat crops

During the three-year monitoring of wheat fields, 147 species of weeds were identified, which were concentrated primarily in the marginal part of the studied fields. In heavily contaminated crops, a significant number of weed species grew both in the marginal and in the main parts of the agroecosystem (Fig. 4b). The latter fact speaks of improper cultivation of fields, the absence of herbicide treatment, the refusal to use pure seed material, etc. A significant number of weed species and their abundance in the fields of cultivated crops, including wheat, also lead to regular replenishment of the soil seed bank weeds. At the same time, seeds of many species, including quarantine ones, can be stored in the soil for decades without losing viability.

In 2019–2020, outbreaks of *Cuscuta campestris* were detected and described in the studied wheat fields. No quarantine species were detected in the studied fields in 2021.

In addition to herbaceous plants, weeds in wheat fields also included woody species (for example, seedlings of *Acer negundo* L., *Rubus caesius* L., *Corylus avellana* L., *Fraxinus excelsior* L., etc.) (Fig. 4c). Woody plants in the

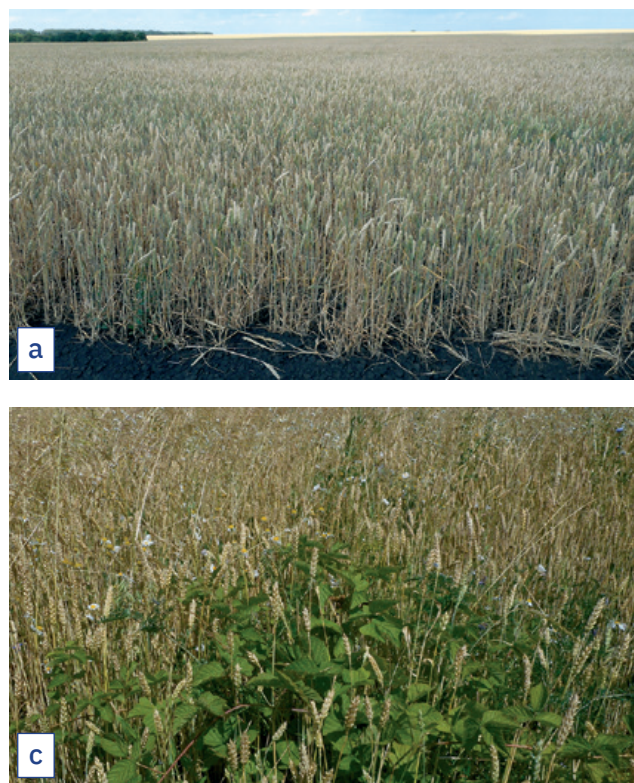


Рис. 4. Разные по засоренности посевы пшеницы Пензенской области:
а – поле пшеницы с минимальным количеством сорных видов; б – поле пшеницы с большим обилием сорных видов; в – поле пшеницы с присутствием *Rubus caesius* L.; д – поле пшеницы с присутствием сорных растений только по краям посевов (фото авторов)



Fig. 4. Wheat crops of different contamination in Penza Oblast:
a – wheat field with a minimum number of weed species; b – a field of wheat with a large abundance of weed species; c – wheat field with the presence of *Rubus caesius* L.; d – wheat field with the presence of weeds only along the edges of the crops (photos by the authors)

Acer negundo L., *Rubus caesius* L., *Corylus avellana* L., *Fraxinus excelsior* L. и др.) (рис. 4с). Древесные растения на территории посевов создают дополнительные трудности при уборке урожая и также свидетельствуют о несоответствующей агротехнике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований составлены предварительные списки сорных растений, встречающихся в посевах (147 видов) и зерне (84 вида) пшеницы Пензенской области. Присутствие этих растений на рассматриваемой территории, отмеченное в течение длительного времени, обеспечивается почвенным банком семян. В связи с этим полученные данные могут быть использованы для оценки экспортных рисков при реализации растениеводческой продукции региона в конкретные страны-импортеры и предоставляют возможность проведения комплекса превентивных агротехнических и фитосанитарных мероприятий.

За 3 года исследований установлено, что как в посевах, так и в зерне пшеницы по числу видов в сорном компоненте преобладает группа двудольных однолетних сорных растений. Видовой состав этой группы может варьировать на разных полях, что обусловлено не столько географическим фактором, сколько локальными почвенно-климатическими условиями, почвенным банком семян и севооборотом конкретных полей. В списке сорных видов, обнаруженных в исследованных посевах и зерне пшеницы, присутствует карантинный для ЕАЭС вид *Cuscuta campestris*. В связи с обнаружением семян *Ambrosia trifida* в образцах зерна необходимо провести дополнительные исследования посевов пшеницы Пензенской области на присутствие этого вида.

Благодарность. Авторы выражают искреннюю признательность Ю.Ю. Кулаковой (кандидату биологических наук, ведущему научному сотруднику – начальнику научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР») и В.А. Гущиной (доктору сельскохозяйственных наук, заведующей кафедрой растениеводства и лесного хозяйства ФГБОУ ВО Пензенский ГАУ) за конструктивное обсуждение статьи в ходе ее подготовки и редактирования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васюков В., Саксонов С., 2020. Конспект флоры Пензенской области / Флора Волжского бассейна. Т. IV; науч. ред. проф. С.В. Саксонов. – Тольятти: Анна, 211 с.
2. Волкова Е., Данкверт С., Маслов М., Магомедов У., 2007. Атлас плодов и семян сорных и ядовитых растений, засоряющих подкарантинную продукцию. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 301 с.
3. Доброхотов В., 1961. Семена сорных растений. – М.: Сельхозиздат, 289 с.
4. Маевский П., 2014. Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 635 с.
5. Майсuryн Н., Атабекова А., 1978. Определитель семян и плодов сорных растений. – М.: Колос, 288 с.
6. Москаленко Г., Юдин Б., 1999. Атлас семян и плодов сорных растений, встречающихся

area of crops create additional difficulties in harvesting and also indicate inappropriate agricultural practices.

CONCLUSION

As a result of the research, preliminary weed lists detected in wheat crops (147 species) and grain (84 species) in Penza Oblast were compiled. The presence of these plants in the area under consideration, noted for a long time, is provided by the soil seed bank. In this regard, the data obtained can be used to assess export risks when selling crop products of the region to specific importing countries and provide an opportunity to carry out a set of preventive agrotechnical and phytosanitary measures.

For 3 years of research, it has been established that both in crops and in wheat grain, in terms of the number of species in the weed component, a group of dicotyledonous annual weeds predominates. The species composition of this group may vary in different fields, which is due not so much to geographical factors as to local soil and climatic conditions, soil seed bank and crop rotation of specific fields. The list of weed species detected in the studied wheat crops and grains includes *Cuscuta campestris*, a quarantine species for the EAEU. In connection with the detection of *Ambrosia trifida* achenes in grain samples, it is necessary to conduct additional studies of wheat crops in Penza Oblast for the presence of this species.

Acknowledgement. The authors express their sincere gratitude to Yu.Yu. Kulakova (PhD in Biology, Leading Researcher – Head of the Research and Methodology Department of Invasive Plant Species of the FGBU “VNIICR”) and V.A. Gushchina (Doctor of Agricultural Sciences, Head of the Department of Plant Growing and Forestry, Penza State Agrarian University) for the constructive discussion of the article during its preparation and editing.

REFERENCES

1. Vasyukov V., Saxonov S. Synopsis of the flora of Penza Oblast [Konspekt flory Penzenskoy oblasti]. Flora of the Volga basin. T. IV; scientific ed. prof. S.V. Saxonov. Togliatti: Anna, 2020; 211 p. (in Russian).
2. Volkova E., Dankvert S., Maslov M., Magomedov U. Atlas of fruits and seeds of weeds and poisonous plants that contaminate regulated products [Atlas plodov i semyan sornykh i yadovitykh rasteniy, zasoryayushchikh podkarantinnyuyu produktsiyu]. M.: Association of Scientific Publications KMK, 2007; 301 p. (in Russian).
3. Dobrokhoto V. Weed seeds [Semena sornykh rasteniy]. M.: Selkhozizdat, 1961; 289 p. (in Russian).
4. Mayevsky P. Flora of the middle zone of the European part of Russia [Flora sredney polosy yevropeyskoy chasti Rossii]. 11th ed. M.: Association of scientific publications KMK, 2014; 635 p. (in Russian).
5. Maisuryan N., Atabekova A. Key to weed seeds and fruits [Opredelitel semyan i plodov sornykh rasteniy]. M.: Kolos, 1978; 288 p. (in Russian).
6. Moskalenko G., Yudin B. Atlas of seeds and fruits of weeds found in regulated cargoes and materials [Atlas semyan i plodov sornykh rasteniy,

в подкарантинных грузах и материалах. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 264 с.

7. Никитин В., 1983. Сорные растения флоры СССР. – Л.: Наука, 454 с.

8. Солянов А., 2001. Флора Пензенской области. – Пенза: ПГПУ им. В.Г. Белинского, 310 с.

9. Фисюнов А., 1984. Сорные растения. – М.: Колос, 320 с.

10. Автоматизированная система доступа к данным таможенной статистики внешней торговли «Доступ-ТСВТ» (АСД «Доступ-ТСВТ»). – URL: <http://stat.customs.ru> (дата обращения: 06.03.2022).

11. Министерство сельского хозяйства Пензенской области. Новости [Электронный ресурс]. 2022. – URL: <https://mcx.pnzreg.ru/news/rastenievodstvo/2978/> (дата обращения: 13.03.2022).

12. Плантариум. Открытый онлайн-атлас и определитель растений и лишайников России и сопредельных стран [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.plantarium.ru> (дата обращения: 13.03.2022).

13. Территориальный орган Федеральной службы государственной статистики по Пензенской области [Электронный ресурс]. 2022. – URL: https://pnz.gks.ru/agriculture_hunting_forestry?print=1 (дата обращения: 06.03.2022).

14. AgroAtlas. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.agroatlas.ru/ru/gis/index.html> (дата обращения: 13.03.2022).

15. GBIF: Global Biodiversity Information Facility [Электронный ресурс]. – URL: <https://www.gbif.org> (дата обращения: 13.03.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сухолюзова Екатерина Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Пенза, Россия; *ORCID 0000-0003-1272-4586*, *e-mail: e_kobozeva@mail.ru*.

Сафонов Алексей Викторович, директор Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Пенза, Россия; *e-mail: av.safonov@list.ru*.

Сухолюзов Евгений Александрович, кандидат биологических наук, государственный инспектор отдела надзора в области карантина растений, качества и безопасности зерна и семеноводства по Пензенской области Управления Россельхознадзора по Республике Мордовия и Пензенской области, г. Пенза, Россия; *e-mail: e.sukholozov@mail.ru*.

vstrechayushchikhsya v podkarantinnykh gruzakh i materialakh]. М.: Association of scientific publications КМК, 1999; 264 p. (in Russian).

7. Nikitin V. Weeds of the flora of the USSR [Sornyye rasteniya flory SSSR]. L.: Nauka, 1983; 454 p. (in Russian).

8. Solyanov A. Flora of Penza Oblast [Flora Penzenskoy oblasti]. Penza: V.G. Belinsky Pedagogical Institute, 2001; 310 p. (in Russian).

9. Fisyunov A. Weeds [Sornyye rasteniya]. M.: Kolos, 1984; 320 p. (in Russian).

10. Automated system of access to data of customs statistics of foreign trade “Dostup-TSVT” (ASD “Dostup-TSVT”). URL: <http://stat.customs.ru> (last accessed: 06.03.2022) (in Russian).

11. Ministry of Agriculture of Penza Oblast. News [Electronic resource]. 2022. URL: <https://mcx.pnzreg.ru/news/rastenievodstvo/2978/> (last accessed: 13.03.2022) (in Russian).

12. Plantarium. An open online atlas and guide to plants and lichens in Russia and neighboring countries [Electronic resource]. URL: <https://www.plantarium.ru> (last accessed: 13.03.2022) (in Russian).

13. Territorial body of the Federal State Statistics Service for Penza Oblast [Electronic resource]. 2022. URL: https://pnz.gks.ru/agriculture_hunting_forestry?print=1 (last accessed: 06.03.2022) (in Russian).

14. AgroAtlas. Agroecological atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their diseases, pests and weeds [Electronic resource]. URL: <http://www.agroatlas.ru/ru/gis/index.html> (last accessed: 13.03.2022) (in Russian).

15. GBIF: Global Biodiversity Information Facility [Electronic resource]. URL: <https://www.gbif.org> (last accessed: 13.03.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina Sukholozova, PhD in Biology, Researcher, Penza Branch of FGBU “VNIICR”, Penza, Russia; *ORCID 0000-0003-1272-4586*, *e-mail: e_kobozeva@mail.ru*.

Aleksey Safonov, Director of Penza Branch of FGBU “VNIICR”, Penza, Russia; *e-mail: av.safonov@list.ru*.

Evgeny Sukholozov, PhD in Biology, state inspector of the department for supervision in the field of plant quarantine, quality and safety of grain and seed production in the Penza region of the Office of the Rosselkhoz nadzor in the Republic of Mordovia and the Penza region, Penza, Russia; *e-mail: e.sukholozov@mail.ru*.

Заболевание пасмо льна. Биологический метод идентификации *Septoria linicola*

И.П. ДУДЧЕНКО¹, А.Г. ЩУКОВСКАЯ²,
Г.Н. ДУДЧЕНКО³

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

¹ ORCID 0000-0003-0169-414X,
e-mail: dudchenko_irina@vniikr.ru

² ORCID 0000-0001-9787-8351,
e-mail: schukovskaya.a@vniikr.ru

³ e-mail: dudchenko_gennadiy@vniikr.ru

АННОТАЦИЯ

Пасмо является опасным заболеванием для культурных и дикорастущих видов льна, и его возбудитель, *Mycosphaerella linicola* Naumov (*Septoria linicola* (Speg.) Garass.), имеет карантинный статус для ряда стран, закупающих льнопродукцию в России. Для того чтобы экспортируемая из России семенная продукция льна соответствовала современным фитосанитарным требованиям, она должна быть свободна от опасных растительных патогенов, в том числе и от *Mycosphaerella linicola*, который, несмотря на широкое распространение, входит в карантинные списки таких стран, как Египет, Узбекистан, Республика Корея, Китай и Беларусь. Поэтому понимание биологических процессов жизнедеятельности возбудителя пасмо льна и связанные с этим вопросы обнаружения и идентификации приобретают особое значение. Современная диагностика фитопатогенов включает в себя комплекс мер, основанных на сочетании молекулярно-генетических и классических методов. В статье рассматриваются вопросы, относящиеся к биологическому методу идентификации возбудителя, основанному на знаниях биологических особенностей развития заболевания и культурально-морфологического анализа. В исследованиях, проведенных авторами в 2021 г. на базе ФГБУ «ВНИИКР», выявлены и наглядно проиллюстрированы важные аспекты прохождения жизненного цикла *Septoria linicola* на агаризованных питательных средах, позволяющие идентифицировать возбудителя пасмо льна в лабораторных условиях в короткие сроки. Также в статье рассматриваются вопросы истории распространения заболевания и изменений таксономического статуса возбудителя.

Ключевые слова. *Mycosphaerella linicola*, стадия *Septogloeum*, спороношение типа *Melanconiales*, пикнидиальное спороношение, культурально-морфологический метод, чистая культура, псевдотеции, аскоспоры, физиологическая форма, инокуляция, диагностика.

Pasmo disease of flax. Biological method of identification of *Septoria linicola*

I.P. DUDCHENKO¹, A.G. SCHUKOVSKAYA²,
G.N. DUDCHENKO³

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

¹ ORCID 0000-0003-0169-414X,
e-mail: dudchenko_irina@vniikr.ru

² ORCID 0000-0001-9787-8351,
e-mail: schukovskaya.a@vniikr.ru

³ e-mail: dudchenko_gennadiy@vniikr.ru

ABSTRACT

Pasmo is a dangerous disease for cultivated and wild flax species, its pathogen, *Mycosphaerella linicola* Naumov (*Septoria linicola* (Speg.) Garass.), has a quarantine status for some countries importing flax products from Russia. For flax seed products exported from Russia to meet modern phytosanitary requirements, they must be free from dangerous plant pathogens, including *Mycosphaerella linicola*, which, despite its wide distribution, is included in the quarantine lists of countries such as Egypt, Uzbekistan, the Republic of Korea, China and Belarus. Therefore, understanding the biological processes of the vital activity of the pasmo flax disease pathogen and the related issues of detection and identification are of particular importance. Modern diagnostics of phytopathogens includes a set of measures based on a combination of molecular genetic and classical methods. The article considers issues related to the biological method of pathogen identification, based on knowledge of the biological characteristics of the disease development and cultural and morphological analysis. In the studies conducted by the authors in 2021 on the basis of FGBU "VNIKIR", important aspects of the life cycle of *Septoria linicola* are identified and clearly illustrated on agar nutrient media, allowing identification of the causative agent of flax pasmo disease in the laboratory in a short time. The article also discusses the history of the spread of the disease and changes in the taxonomic status of the pathogen.

Key words. *Mycosphaerella linicola*, *Septogloeum* stage, *Melanconiales* sporulation, pycnidial sporulation, cultural morphological method, pure culture, pseudothecia, ascospores, physiological form, inoculation, diagnostics.

ВВЕДЕНИЕ

История обнаружений и распространение

Заболевание пасмо льна, широко распространенное во всех льносеющих регионах мира, имеет несколько необычную и до сих пор до конца не выясненную историю. Впервые заболевание было обнаружено в Аргентине в 1909 г. исследователем Спегаззини на льне, собранном в том же году в окрестностях Ла-Платы (Spegazzini, 1911, series III, series V). Однако, вряд ли Аргентина является родиной заболевания, поскольку культурные виды льна в этой стране изначально имели иноземное происхождение, а на диких видах льна, по утверждению Гарассини, заболевание отмечено не было (Garassini, 1938). В 1916 г. заболевание обнаруживают в США, в 1928 г. в Канаде, в 1930 г. в Новой Зеландии и на Дальнем Востоке СССР, в 1938 г. в Европе, в 1941 г. в Африке и в 1958 г. в Китае. За 50 лет заболевание распространяется по всему миру, и везде, где оно появляется, его считают одним из самых вредоносных на культуре льна (рис. 1).

Первоначально возбудитель был описан Спегаззини в 1911 г. под именем *Phlyctaena linicola* Speg., при этом характерными таксономическими признаками указывались такие, как наличие под эпидермисом не вполне сформированных пикнид с широким устьищем и наличие одноклеточных спор (Spegazzini, 1911, series III). Примерно в это же время по причине характерного непикнидиального спороношения этот же гриб был описан этим же автором как *Septogloeum linicola* Speg. (Spegazzini, 1911, series V). В 1938 г. Гарассини доказывает ошибочность такого систематического положения возбудителя на основании того, что в развитии гриба одновременно можно было найти широко раскрытые пикниды, пикниды с небольшим устьищем и участки спороношения, напоминающие ложа меланкониевых грибов. К тому же было показано, что помимо одноклеточных спор, характерных для рода *Phlyctaena*, у возбудителя имеются многоклеточные споры, чаще всего с тремя перегородками. Все это позволило исследователю отнести возбудителя пасмо льна к представителям рода *Septoria* под именем *Septoria linicola* (Speg.) Garass. (Garassini, 1938). В том же году Волленвебер нашел на льняной соломе из Аргентины сумчатую стадию возбудителя пасмо и описал ее как *Sphaerella linicola* (Wollenweber, 1938). Ему удалось из сумкоспор получить культуру *Septoria linicola*, причем в его работе образованию пикнидиального спороношения предшествовала стадия *Septogloeum*. Таким образом, была установлена генетическая связь *Sphaerella linicola* с несовершенными спороношениями *Septoria linicola* и *Septogloeum linicola*. Более поздние исследования позволили перуанскому микологу Гарсия-Раде переименовать гриб в *Mycosphaerella linorum* (Woll.)

INTRODUCTION

History of detections and spreading

The pasmo disease of flax, which is widespread in all flax-growing regions of the world, has a somewhat unusual and still not fully clear history. The disease was first detected in Argentina in 1909 by the researcher Spegazzini on flax collected in the same year in the vicinity of La Plata (Spegazzini, 1911, series III, series V). However, Argentina is unlikely to be the birthplace of the disease, since cultivated flax species in this country were originally of foreign origin, and according to Garassini, the disease was not observed on wild flax species (Garassini, 1938). In 1916, the disease was detected in the USA, in 1928 in Canada, in 1930 in New Zealand and the Far East of the USSR, in 1938 in Europe, in 1941 in Africa and in 1958 in China. For 50 years, the disease has been spreading all over the world, and wherever it appears, it is considered one of the most harmful on flax culture (Fig. 1).

The pathogen was originally described by Spegazzini in 1911 under the name of *Phlyctaena linicola* Speg., with characteristic taxonomic features being the presence of incompletely formed pycnidia with a wide stomata under the epidermis and the presence of unicellular spores (Spegazzini, 1911, series III). Around the same time, due to the characteristic non-pycnidial sporulation, the same fungus was described by the same author as *Septogloeum linicola* Speg. (Spegazzini, 1911, series V). In 1938, Garassini proves the fallacy of such a systematic position of the pathogen on the basis that in the development of the fungus one could simultaneously find widely opened pycnidia, pycnidia with a small stomata, and areas of sporulation resembling a lodge of melanconium fungi. In addition, it was shown that in addition to unicellular spores characteristic of the genus *Phlyctaena*, the pathogen has multicellular spores, most often with three septa. All this allowed the researcher to attribute the causative agent of pasmo disease to representatives of the genus *Septoria* under the name of *Septoria linicola* (Speg.) Garass. (Garassini, 1938). In the same year, Wollenweber detected the ascigerous stage of the flax pasmo disease pathogen on flax straw from Argentina and described it as *Sphaerella linicola* (Wollenweber, 1938). He managed to get *Septoria linicola* culture from ascospores, moreover, in his work, the formation of pycnidial sporulation was preceded by



Рис. 1. Симптомы пасмо льна на листьях (а) и стеблях (б) растения (<https://betaren.ru/harmful/bolezni/bolezni-lna/pasmo/>)

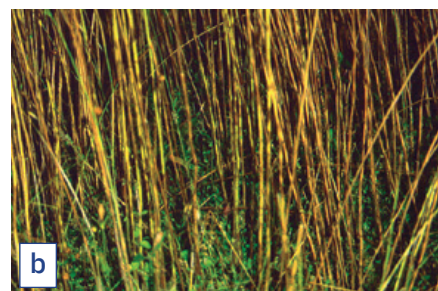


Fig. 1. Symptoms of pasmo disease of flax on leaves (a) and stems (b) plants (<https://betaren.ru/harmful/bolezni/bolezni-lna/pasmo/>)

Garcia-Rada (Проценко, 1964). Однако впоследствии выяснилось, что самое раннее описание сумчатой стадии возбудителя пасмо льна принадлежит советскому микологу, основателю отечественной фитопатологии Н.А. Наумову, описавшему более 200 новых видов грибов из 25 родов. Гриб был выделен Наумовым в СССР в 1926 г. из псевдотециев, обнаруженных на растениях льна (*Linum usitatissimum* L.), и описан как *Mycosphaerella linicola* Naumov (1926) (Проценко, 1964). В настоящее время возбудитель пасмо льна известен именно под этим именем.

Считается, что впервые в СССР заболевание пасмо льна было обнаружено и зарегистрировано на Дальнем Востоке в 1930 г. на растениях льна, выращенных из аргентинских семян (Наталина, 1931). Но тогда возникает вопрос, что описывал Наумов в 1926 г. на льне обыкновенном, если симптоматика, очевидно, была та же? Значит, заболевание было в России уже до этого? До исследований, опубликованных французскими учеными в 2020 г., описавшими сумчатую стадию пасмо льна во Франции, часто можно было встретить в литературе утверждение, что возбудитель пасмо льна в Европе в естественных условиях не образует сумчатой стадии, развиваясь по сокращенному циклу (Raumier et al., 2020). Это подтверждают и исследования Т.Е. Вахрушевой, проведенные в 1985 г., которые показали, что на территории бывшего СССР патоген в сумчатой стадии не был обнаружен (Вахрушева, 1985). Но Наумов описывал сумчатую стадию *M. linicola* на основании псевдотециев, найденных на льне в России в 1926 г., опередив французских исследователей на 100 лет. Хотя тогда не была показана генетическая связь *M. linicola* с его анаморфами и не была определена роль сумчатой стадии в распространении инфекции.

Как это часто бывает в микологии, трудности в идентификации и систематике возникают из-за того, что патоген, обладая широким спектром механизмов для выживания, в различных условиях проявляет свои свойства так, что исследователям кажется, что они имеют дело с разными видами. Это в первую очередь касается таких возбудителей, как *M. linicola*.

Биологические особенности

Цикл развития гриба имеет 3 стадии, отличающиеся между собой характером спороношения и морфологией спороносящих структур (Проценко, 1964; Примаковская, 1971) (рис. 2):

I стадия – пикнидиальная (*Septoria linicola*), в этой стадии в центральной части пораженных

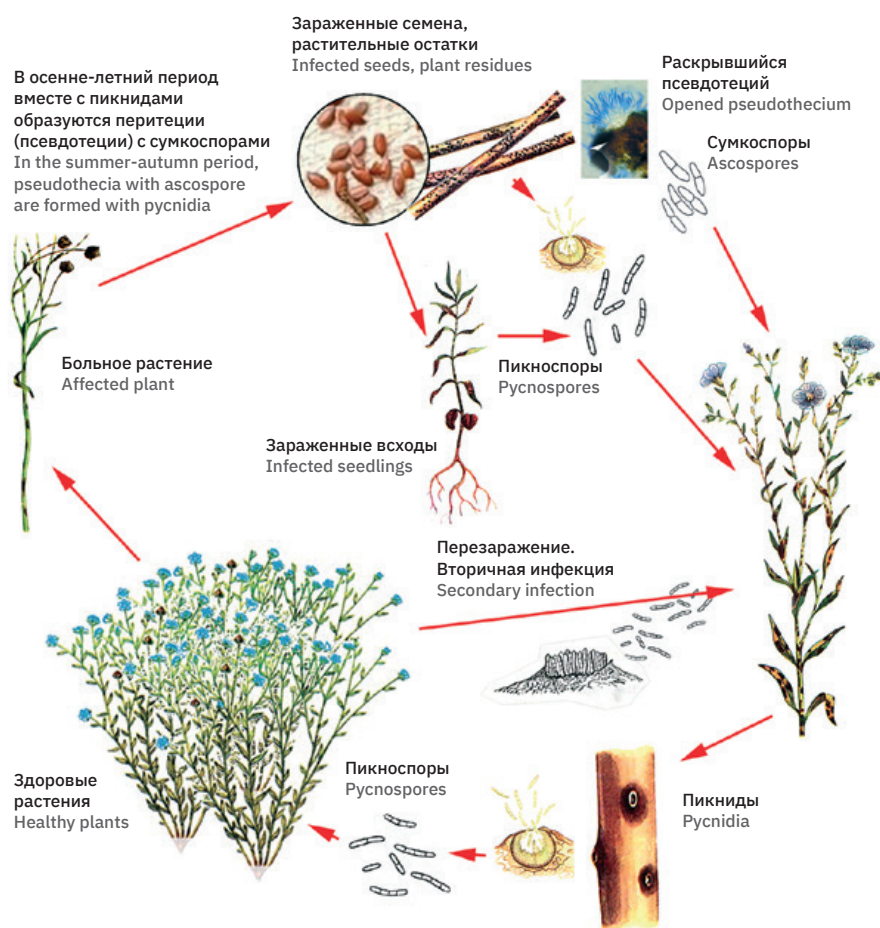


Рис. 2. Жизненный цикл развития возбудителя пасмо льна (Г.Н. Дудченко)

Fig. 2. Life cycle of development of the flax pasmo disease pathogen (G.N. Dudchenko)

the *Septogloeum* stage. Thus, the genetic relationship of *Sphaerella linicola* with imperfect sporulation of *Septoria linicola* and *Septogloeum linicola* was established. Later research allowed the Peruvian mycologist Garcia-Rada to rename the fungus to *Mycosphaerella linorum* (Woll.) Garcia-Rada (Protsenko, 1964). However, later it turned out that the earliest description of the ascigerous stage of the flax pasmo pathogen belongs to the Soviet mycologist, the founder of Russian phytopathology N.A. Naumov, who described more than 200 new species of fungi from 25 genera. The fungus was isolated by Naumov in the USSR in 1926 from pseudothecia found on flax plants (*Linum usitatissimum* L.), and was described as *Mycosphaerella linicola* Naumov (1926) (Protsenko, 1964). At present, the causative agent of flax pasmo disease is known under this name.

It is believed that for the first time in the USSR, the pasmo disease of flax was detected and reported in the Far East in 1930 on flax plants grown from Argentinian seeds (Natalina, 1931). But then the question arises, what did Naumov describe in 1926 on common flax, if the symptoms were obviously the same? So, the disease was present in Russia already before that? Prior to the studies published by French scientists in 2020, which described the ascigerous stage of flax pasmo disease on flax straw in France, it was often possible



Рис. 3. Сформировавшиеся пикниды и псевдотеции на пораженном стебле льна (фото авторов). Погруженные в эпидермис, плоские и более светлые образования – пикниды. Выпуклые, округлые и более темные образования – псевдотеции.

Fig. 3. Formed pycnidia and pseudothecia on the affected flax stalk (photo by the authors). Immersed in the epidermis, flat and lighter formations are pycnidia. Convex, rounded and darker formations are pseudothecia.

участков образуются хорошо видимые пикниды (рис. 3, 19);

II стадия – конидиальная, в этой стадии формируется спороношение в виде малозаметных небольших лож типа *Melanconiales/Septogloeum*, от которых отделяются споры, похожие на *S. linicola* (рис. 12);

III стадия – сумчатая стадия *M. linicola* представлена плодовыми телами псевдотециями, которые образуются на стеблях больных растений в летне-осенний период (рис. 3, 21).

В своем развитии, в зависимости от внешних условий, гриб может проходить все 3 стадии жизненного цикла последовательно, а может выборочно – в различном сочетании. При этом конидиальная стадия может предшествовать пикнидиальной. Так, Волленвебер в своих исследованиях указывал на образование свободных конидий перед образованием пикнид (Wollenweber, 1938). А Ансельм (1960) при заражении растений наблюдал образование пучков мицелия, выступающих через устьица листьев льна на 8-й день после заражения и отделяющих конидии (Anselme, 1960). В подустьичных камерах образовывались скопления переплетающихся мицелиальных нитей, которые автор считал зачатками пикнид или спороношением типа *Septogloeum* (Anselme, 1960). Сумчатая стадия в цикле развития гриба образуется редко и не всегда попадает в поле зрения исследователей, но, по утверждению французских ученых, эта стадия играет значительную роль как в адаптации возбудителя к внешним условиям, так и в распространении инфекции во Франции и Европе (Paumier et al., 2020).

Ратай К. в своей работе, датированной 1953 г., указывал на существование двух физиологических форм возбудителя пасмо льна, отличающихся по агрессивности и географическому распространению (Rataj, 1953). По его утверждению, физиологическая форма «А» широко распространена в Европе, Азии и Америке, она менее агрессивна и образует пикниды. Эта форма характеризуется более длинным инкубационным периодом и факультативно обладает сапрофитными свойствами, которые позволяют ей дольше сохраняться на растительных остатках. Более агрессивная форма «Б» распространена в Аргентине и на территории бывшей Чехословакии. Особенностью формы «Б»

to find in the literature the assertion that the causative agent of flax pasmo disease in Europe does not form the ascigerous stage under natural conditions, developing according to a shortened cycle (Paumier et al., 2020). This is also confirmed by the studies of T.E. Vakhrusheva, carried out in 1985, which showed that the pathogen in the ascigerous stage was not detected on the territory of the former USSR (Vakhrusheva, 1985). But Naumov described the ascigerous stage of *M. linicola* on the basis of pseudothecia detected on flax in Russia in 1926, ahead of French researchers by 100 years. Although the genetic relationship of *M. linicola* with its anamorphs was not shown at that time, and the role of the ascigerous stage in the spread of infection was not determined.

As is often the case in mycology, difficulties in identification and taxonomy arise from the fact that the pathogen, having a wide range of mechanisms for survival, manifests its properties in different conditions in such a way that it seems to researchers that they are dealing with different species. This primarily applies to pathogens such as *M. linicola*.

Biological characteristics

The development cycle of the fungus has 3 stages, which differ in the nature of sporulation and the morphology of spore-bearing structures (Protsenko, 1964; Primakovskaya, 1971) (Fig. 2):

I stage – pycnidial (*Septoria linicola*), at this stage, clearly visible pycnidia form in the central part of the affected areas (Fig. 3, 19);

II stage – conidial, at this stage sporulation is formed in the form of inconspicuous small lodges of the type *Melanconiales/Septogloeum*, from which spores similar to *S. linicola* extract (Fig. 12);

III stage – ascigerous stage of *M. linicola* It is represented by fruiting bodies of pseudothecia, which are formed on the stems of diseased plants in the summer-autumn period (Fig. 3, 21).

In its development, depending on external conditions, the fungus can go through all 3 stages of the

является образование конидиального спороношения типа *Septogloeum*. Пикниды при этом не формируются, вместо них образуются ложа с конидиями в виде подушечек. Эта форма плохо растет в чистой культуре, характеризуется более коротким инкубационным периодом и быстрой гибелью инокулированных растений.

Как отмечают многие авторы, отличительной особенностью возбудителя пасмо льна является то, что в процессе развития анаморфных стадий гриб может образовывать как настоящие конидиальные спороношения, так и целый спектр переходов от свободных конидиеносцев до открытых и в разной степени закрытых лож, производящих конидии (Курчакова, 2009; Проценко, 1964; Rataj, 1953; Wollenweber, 1938). Это подтверждают и наши исследования, проведенные в 2021 г. в рамках работы по изучению биологии возбудителя пасмо льна и по разработке биологического метода его идентификации на основе культурально-морфологических свойств патогена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались следующие материалы: гербарные образцы растений льна с симптомами пасмо, собранные в провинции Манитоба (Канада) в 1957 г. и в Китае в 1958 г., из микологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР»; вегетирующие, здоровые растения льна; 2 изолята *S. linicola* (псковский и китайский) из микологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР».

Применялись следующие методы: метод выделения чистых культур с использованием сред – 2%-го картофельно-глюкозного агар (КГА), солодово-дрожжевого агар, агар с кусочками моркови, 2%-го картофельно-морковного агар (КМА); метод искусственной инокуляции с нанесением суспензии спор в концентрации 25–50 спор в капле на автоклавированные кусочки стеблей льна, помещенные на солодовый агар; метод световой микроскопии (микроскоп Olympus BX53, микроскоп Axio Imager A2, стереомикроскоп Discovery V20) при 20-, 40- и 50-кратном увеличении; метод морфометрии с использованием программы CellSens standard; метод фотофиксации (Canon 5D и штатные камеры микроскопов).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе работы чистые культуры *S. linicola* образовывали характерные для септориозов округлые, медленно растущие, выпуклые колонии складчатого типа с наличием приподнятого более плотного центра. Окраска колоний со временем менялась. Вначале она была светлая, почти белая; потом постепенно темнела и в конце варьировала от темно-серой до почти черной (рис. 4).

life cycle sequentially, or selectively – in various combinations. In this case, the conidial stage may precede the pycnidial stage. Thus, Wollenweber in his studies pointed to the formation of free conidia before the formation of pycnidia (Wollenweber, 1938). And Anselme (1960), when infecting plants, observed the formation of mycelium bundles protruding through the stomata of flax leaves on the 8th day after infection and separating conidia (Anselme, 1960). In the stomatal chambers, clusters of intertwining mycelial filaments are formed, which the author considered the rudiments of pycnidia or sporulation of the type *Septogloeum* (Anselme, 1960). The ascigerous stage in the development cycle of the fungus is rarely formed and does not always fall into the field of view of researchers, but, according to French scientists, this stage plays a significant role both in the adaptation of the pathogen to external conditions and in the spread of infection in France and Europe (Paumier et al., 2020).

Rataj K. in his work, dated 1953, pointed out the existence of two physiological forms of the causative agent of pasmo disease, differing in aggressiveness and geographical distribution (Rataj, 1953). According to him, the physiological form “A” is widespread in Europe, Asia and America, it is less aggressive and forms pycnidia. This form is characterized by a longer incubation period and optionally has saprophytic properties that allow it to survive longer on plant debris. A more aggressive form “B” is common in Argentina and in the territory of the former Czechoslovakia. A feature of form “B” is the formation of conidial sporulation of the *Septogloeum* type. In this case, pycnidia are not formed, instead of them a lodge with conidia in the form of pustulations is formed. This form does

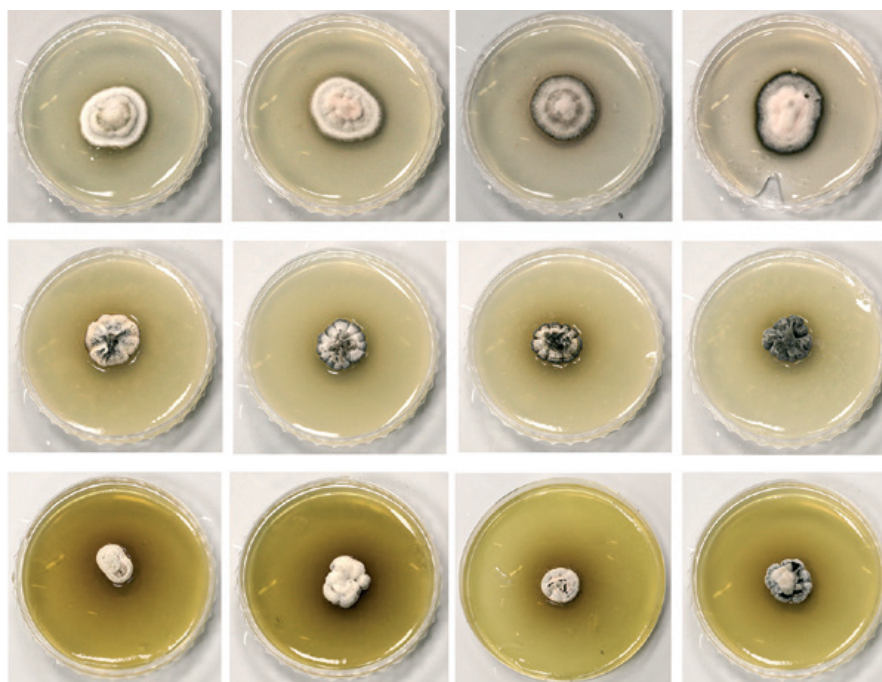


Рис. 4. Физиологические формы *Septoria linicola* на питательных средах (1-й, 2-й ряд – 2%-й КГА; 3-й ряд – солодовый агар (фото авторов))

Fig. 4. Physiological forms of *Septoria linicola* on nutrient media (1st, 2nd row – 2% PDA; 3rd row – malt agar (photos by the authors))

Колонии *S. linicola* заметно отличаются от колоний других патогенов, встречающихся на растениях льна, и это облегчает работу по идентификации возбудителя по культуральному признаку (рис. 5). Трудности при получении чистой культуры *S. linicola* от образцов, взятых из растительного материала, заключаются в том, что колонии возбудителя пасмо льна обладают очень медленной скоростью роста и при высеве на питательную среду они легко забиваются быстрорастущими колониями других патогенов.

Динамика роста колоний возбудителя на различных питательных средах очень низкая (рис. 6). На 3-й день развития колония *S. linicola* на 2%-м КГА достигает всего 2–3 мм в диаметре и представляет собой округлое, выпуклое образование почти белого цвета. В это время колония еще не образовала никаких споронных структур, тем не менее при микроскопировании уже можно наблюдать редкие, единичные конидии, отделившиеся от мицелия (рис. 7). К 14-м суткам в зависимости от типа среды диаметр колоний увеличился до 14 мм, но не превышал 22 мм. К 20-м суткам рост колонии практически прекратился, хотя сама колония в дальнейшем претерпевала изменения в своей структуре и окраске (рис. 4).

На 4–5-й день развития в нижней части колонии нити мицелия начинают утолщаться и темнеть, в то время как верхняя часть мицелия остается светлой. На рисунке 8 хорошо видно образование темной гифы на фоне более тонкого, светлого мицелия и начало образования споронной полости. На начальном этапе развития колонии нижний мицелий местами окрашивается в красновато-бурый цвет, из-за чего вся колония приобретает розоватый оттенок (рис. 9).

На рисунке 10 показано, как в отдельных гифах начинают образовываться округлые включения темно-кирпичного цвета. После того, как эти включения, сливаясь, заполняют гифы, мицелий становится бурым и впоследствии – почти черным. Если до этого конидии образовывались на отдельных конидиеносцах, то появление такого мицелия говорит о начале формирования спорулирующих структур.

Гифы темного мицелия уплотняются, и на них образуются стромы и камеры в виде темных бугорков, в которых формируются споры (рис. 11а). Интенсивность споронности увеличивается, но трудно установить его источник. Форма колонии приобретает комковатость и складчатость. Часто вокруг колонии становится заметным темный ободок, образованный бурым мицелием (рис. 11б). Реверзум колонии темно-бурый (рис. 11с).

В этот период можно наблюдать конидиальную стадию *Septogloeum* с образованием споронности в виде меланкониальных лож (рис. 12). Споры на коротких конидиеносцах располагаются перпендикулярно или под небольшим углом по отношению

not grow well in pure culture, is characterized by a shorter incubation period and rapid death of inoculated plants.

As many authors note, a distinctive feature of the flax pasmo disease pathogen is that during the development of anamorphic stages, the fungus can form both true conidial sporulation and a whole range of transitions from free conidiophores to open and, to varying degrees, closed lodges that produce conidia (Kurchakova, 2009; Protsenko, 1964; Rataj, 1953; Wollenweber, 1938). This is also confirmed by our studies conducted in 2021 as part of the study of the biology of the flax pasmo disease pathogen and the development of a biological method for its identification based on the cultural and morphological properties of the pathogen.

MATERIALS AND METHODS

The following materials were used in the work: herbarium samples of flax plants with pasmo disease symptoms, collected in the province of Manitoba (Canada) in 1957 and in China in 1958, from the “VNIKR” mycological collection; vegetative, healthy flax plants; 2 isolates of *S. linicola* (Pskov and Chinese) from the “VNIKR” mycological collection.

The following methods were used: the method of isolating pure cultures using media – 2% potato dextrose agar (PDA), malt yeast agar, agar with carrot pieces, 2% potato carrot agar (PCA); the method of artificial inoculation with the application of a suspension of spores at a concentration of 25–50 spores per drop onto autoclaved pieces of flax stems placed on malt agar; light microscopy method (Olympus BX53 microscope, Axio Imager A2 microscope, Discovery V20 stereomicroscope) at 20x, 40x and 50x magnification; morphometry method using the CellSens standard program; photofixation method (Canon 5D and standard microscope cameras).

RESULTS AND DISCUSSION

In the course of work, pure cultures of *S. linicola* formed typical of *Septoria* rounded, slow-growing, convex folded-type colonies, with an elevated, denser center. The color of the colonies changed over time. At first, it was light, almost white; then gradually darkened and at the end varied from dark gray to almost black (Fig. 4).

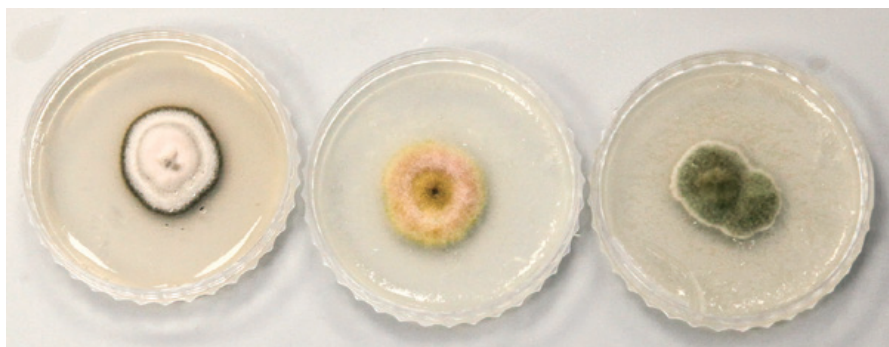


Рис. 5. Колонии (слева направо) *Septoria linicola*, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. на 2%-м КГА, выделенные из растительных образцов льна (фото авторов)

Fig. 5. Colonies (left to right) *Septoria linicola*, *Fusarium* spp., *Alternaria* spp. on 2% PDA, isolated from plant samples of flax (photo by the authors)

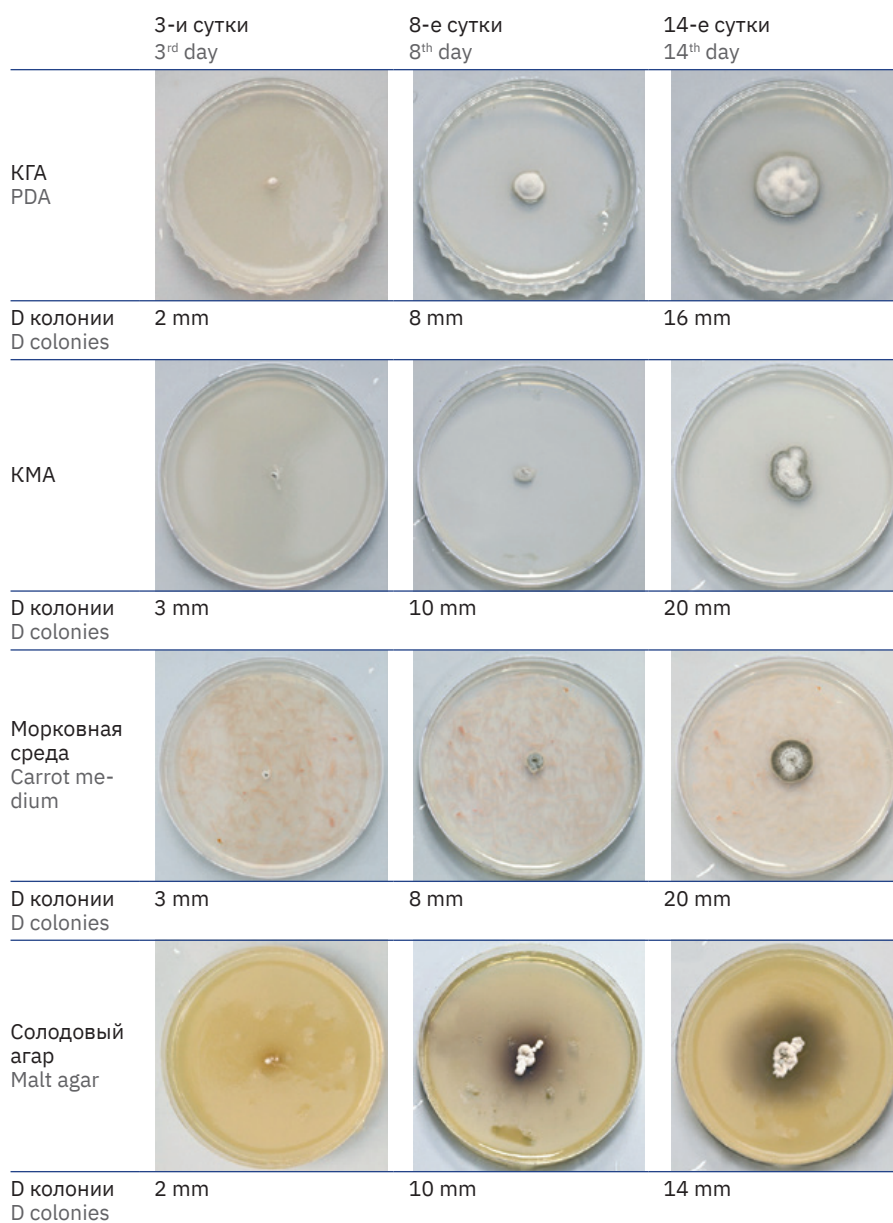


Рис. 6. Развитие колоний *Septoria linicola* на различных питательных средах (фото авторов)

Fig. 6. Development of *Septoria linicola* colonies on various nutrient media (photos by the authors)

к ложу, образованному гифами темного мицелия. Ложка малозаметны, и их непросто увидеть.

В зависимости от внешних условий и происхождения изолята развитие споронотения в колонии может пойти по типу, описанному Н.М. Васильевским (1924) для *S. ribis* (Васильевский, 1924). В этом случае гифальный клубочек, образованный сплетением гиф, разрастается, и его ткань, растворяясь, заменяется спорами. Или же возможно развитие по типу, описанному Харрисом (1935) для *S. lycopersici* (Harris, 1935). В этом случае гифальный клубочек преобразуется в замкнутую пикнидиальную камеру, в которой закладываются и развиваются пикноспоры (симфогенный тип развития).

На рисунке 13 на нескольких пикнидах, находящихся в разной степени созревания, показано развитие пикниды от зарождения до зрелости. Пикниды *S. linicola* представляют собой тонкостенные, округлыеместилища спор, окрашенные в темно-коричневый цвет. Полупрозрачные вначале пикниды со временем темнеют и увеличиваются

The colonies of *S. linicola* are clearly different from the colonies of other pathogens found on flax plants, and this makes it easier to identify the pathogen by the cultural character (Fig. 5). Difficulties in obtaining a pure culture of *S. linicola* from samples taken from plant material are due to the fact that the colonies of the pasmo disease of flax have a very slow growth rate and, when sown on a nutrient medium, they are easily contaminated with fast-growing colonies of other pathogens.

The growth dynamics of pathogen colonies on various nutrient media is very low (Fig. 6). On the 3rd day of development, the *S. linicola* colony on 2% PDA reaches only 2–3 mm in diameter and is a round, convex, almost white formation. At this time, the colony has not yet formed any spore-bearing structures; nevertheless, under microscopy, one can already observe rare, single conidia that have separated from the mycelium (Fig. 7). By the 14th day, depending on the type of medium, the diameter of the colonies increased to 14 mm, but did not exceed 22 mm. By the 20th day, the growth of the colony practically stopped, although the colony itself subsequently underwent changes in its structure and color (Fig. 4).

On the 4th–5th day of development, in the lower part of the colony, the mycelium filaments begin to thicken and darken, while the upper part of the

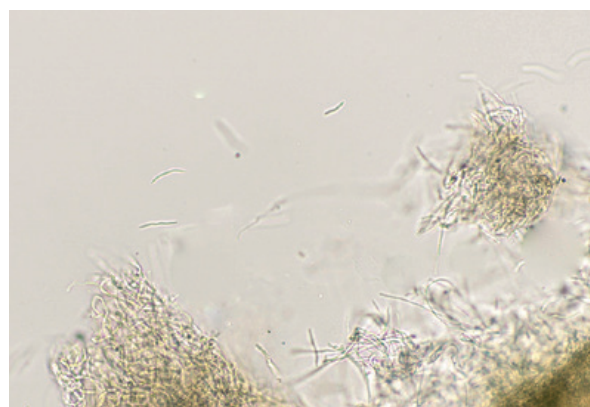


Рис. 7. Единичные конидии *Septoria linicola* на 2%-м КГА (фото авторов)

Fig. 7. Single conidia of *Septoria linicola* on 2% PDA (photo by the authors)

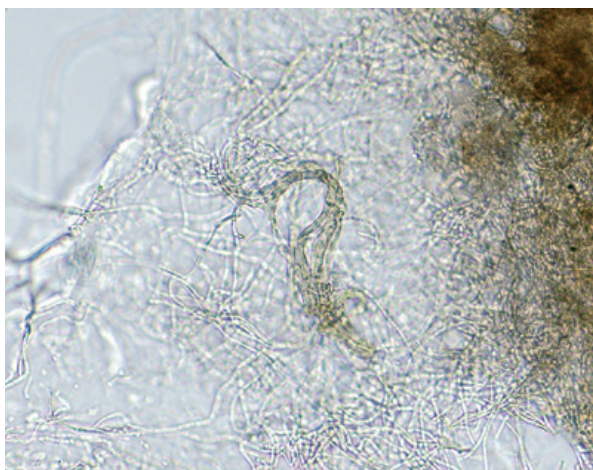


Рис. 8. Образование темного мицелия и начало образования спорогенной полости (фото авторов)

Fig. 8. Formation of a dark mycelium and the beginning of the formation of a sporogenous cavity (photo by the authors)

в размере (рис. 13). Размеры пикнид варьируют от 60 до 125 мкм в диаметре.

По мере созревания спор давление внутри пикнидиальной камеры увеличивается, и при полном их созревании споры выбрасываются наружу направленным потоком через образовавшееся в пикниде отверстие (рис. 14).

Споры *S. linicola*, несмотря на различные источники их образования – от единичных конидиеносцев до пикнид, – имеют одинаковые, в пределах

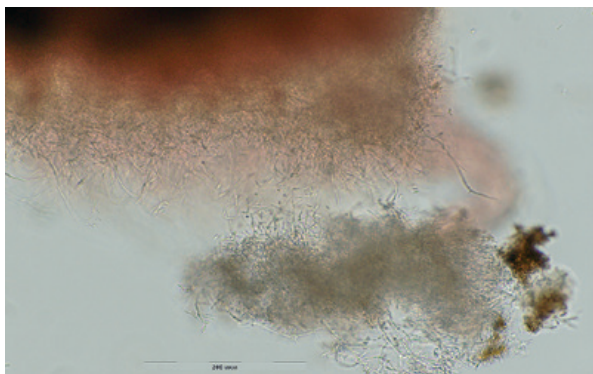


Рис. 9. Колония приобретает розоватый оттенок (фото авторов)

Fig. 9. The colony acquires a pinkish hue (photos by the authors)

mycelium remains light. Figure 8 clearly shows the formation of a dark hypha against the background of a thinner, lighter mycelium and the beginning of the formation of a sporogenous cavity. At the initial stage of colony development, the lower mycelium turns reddish-brown in places, due to which the entire colony acquires a pinkish hue (Fig. 9).

Figure 10 shows how rounded inclusions of a dark brick color begin to form in individual hyphae. After these inclusions, merging, fill the hyphae, the mycelium becomes brown and subsequently almost black. If prior to this, conidia were formed on individual conidiophores, then the appearance of such a mycelium indicates the beginning of the formation of sporulating structures.

The hyphae of the dark mycelium become denser, and stromas and chambers in the form of dark tubercles are formed on them, in which spores are formed (Fig. 11a). The intensity of sporulation increases, but it is difficult to establish its source. The shape of the colony becomes lumpy and folded. Often, a dark rim formed by brown mycelium becomes visible around the colony (Fig. 11b). The reversum of the colony is dark brown (Fig. 11c).

During this period, one can observe the conidial stage of *Septogloeum* with the formation of sporulation in the form of melanconial lodges (Fig. 12). Spores on short conidiophores are located perpendicular or at a slight angle to the lodge formed by hyphae of the dark mycelium. Lodge is subtle and not easy to see.

Depending on the external conditions and the origin of the isolate, the development of sporulation in the

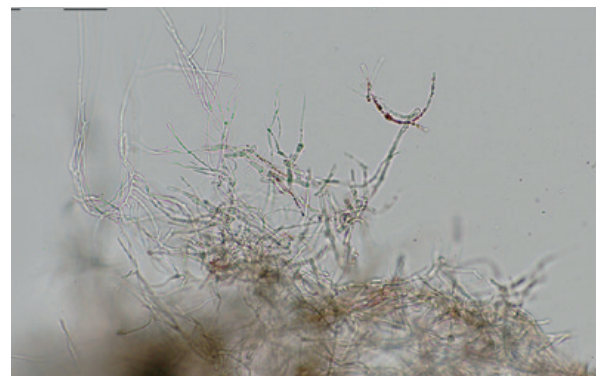


Рис. 10. Начало образования бурого мицелия. Покраснение отдельных гиф (фото авторов)

Fig. 10. The beginning of the formation of brown mycelium. Redness of individual hyphae (photos by the authors)



Рис. 11: а – темные бугорки (ацервулы) на мицелии (показаны стрелкой); б – колония *Septoria linicola*; с – обратная сторона колонии (реверзум) (фото авторов)

Fig. 11: a – dark tubercles (acervuli) on the mycelium (shown by the arrow); b – colony of *Septoria linicola*; c – the reverse side of the colony (reversum) (photos by the authors)

погрешности, морфологические характеристики, что облегчает идентификацию возбудителя. Это бесцветные, палочковидные, прямые или несколько изогнутые споры, с закругленными концами, с одной-тремя хорошо различимыми перегородками. В нашем исследовании размер спор составил 16,8–28 (40) × 1,8–3,1 мкм (рис. 15). Морфологические характеристики конидий являются основным диагностическим параметром при идентификации пасмо льна.

Споры в теплой воде легко прорастают, образуя рогаткообразные структуры (рис. 16а). Также можно встретить деформированные споры, когда одна из нескольких клеток споры разрастается, образуя структуру наподобие хламидоспоры (рис. 16б).

Во время выхода из пикниды пикноспоры окружены маслянистой вязкой жидкостью, и, чтобы освободиться от нее, спорам необходима капельно-жидкая влага в виде полива или дождя. С каплями воды пикноспоры попадают на здоровые растения льна, прорастают и заражают их. Поэтому распространение заболевания в поле носит очаговый характер. На воздухе экссудат со спорами застывает в виде капель, спиралек или усиков (рис. 17). Выделившийся экссудат издает слабый фруктовый аромат, который привлекает питающихся им насекомых. После питания на больном растении насекомые перелетают на соседние здоровые растения и заражают их прилипшими во время питания спорами возбудителя.

Об избирательности прохождения жизненного цикла в зависимости от внешних условий говорит и небольшой опыт, проведенный в рамках исследования. За время наблюдения за ростом колоний

colony can proceed according to the type described by N.M. Vasilevsky (1924) for *S. ribis* (Vasilevsky, 1924). In this case, the hyphal glomerulus, formed by the plexus of hyphae, grows, and its tissue, dissolving, is replaced by spores. Or development according to the type described by Harris (1935) for *S. lycopersici* (Harris, 1935) is possible. In this case, the hyphal glomerulus transforms into a closed pycnidial chamber, in which pycnosporangia are laid and develop (symplogenous type of development).

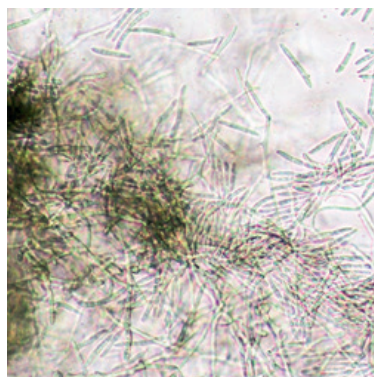


Рис. 12. Меланконциальный тип спороношения *Septoria linicola* (фото авторов)

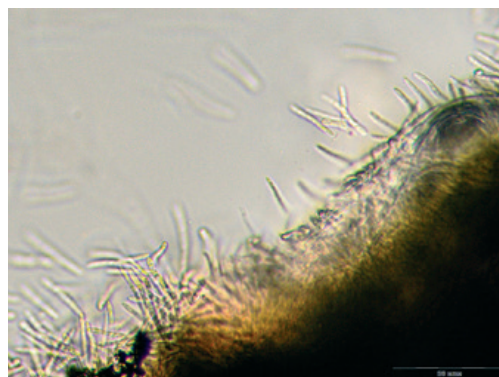


Fig. 12. Melanconial type of sporulation of *Septoria linicola* (photos by the authors)

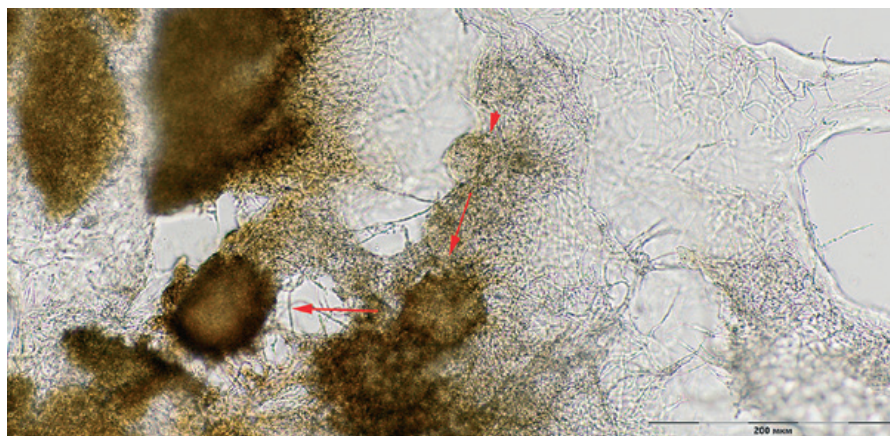


Рис. 13. Симфогенный тип развития пикниды (фото авторов)

Fig. 13. Symphogenous type of pycnidia development (photo by the authors)

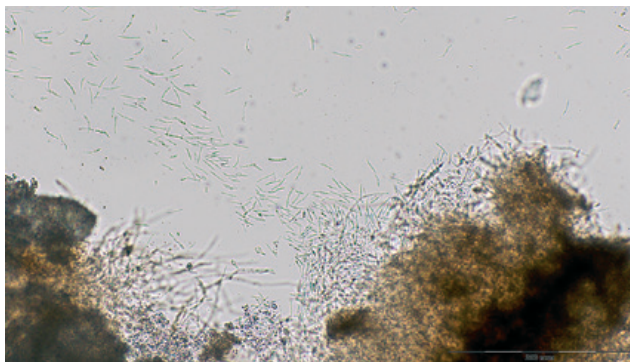


Рис. 14. Пикноспоры, выходящие из пикниды (фото авторов)

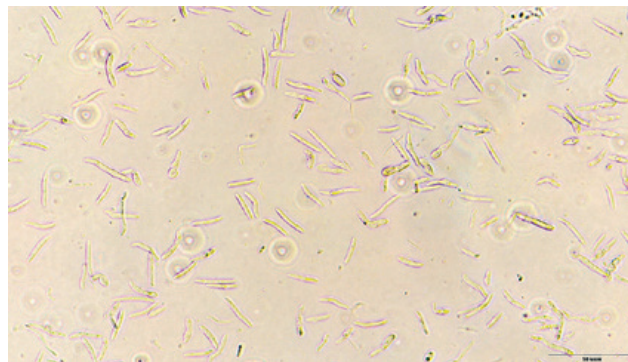


Fig. 14. Pycnospores emerging from the pycnidia (photos by the authors)

в течение 20 дней было отмечено, что колонии не образовывали пикнид, хотя спороношение при этом было обильным, что свидетельствует о достаточной жизнеспособности колонии. Кусочки стеблей льна были инокулированы спорами исследуемых образцов и помещены в чашки Петри на солодовый агар (рис. 18). Уже на 4-й день на кусочках стеблей образовались хорошо заметные пикниды с капельками выходящих спор (рис. 19), в то время как на агаризованных средах пикниды отсутствовали в течение длительного времени. Образование пикнид наряду с другими факторами подтверждает, что исследуемые изоляты относятся к менее агрессивной физиологической форме «А», широко распространенной в мире, и в частности в России.

Как уже указывалось выше, сумчатая стадия развития гриба отмечается редко. В конце летне-осеннего периода на больных растениях вместе с пикнидами образуются псевдотеции с аскоспорами в сумках. В отличие от полупрозрачных, погруженных в субстрат пикнид, псевдотеции находятся на поверхности и имеют более темный, почти черный цвет (рис. 3). Весной, при благоприятных условиях, аскоспоры выходят из псевдотеций и вместе с вышедшими из перезимовавших пикнид пикноспорами заражают взойдящие растения льна. При исследовании гербарных образцов

Figure 13 shows the development of a pycnidia from inception to maturity on several pycnidia at different stages of maturation. The pycnidia of *S. linicola* are thin-walled, rounded spore receptacles, colored dark brown. Translucent at first, pycnidia darken with time and increase in size (Fig. 13). The size of pycnidia varies from 60 to 125 microns in diameter.

As the spores mature, the pressure inside the pycnidial chamber increases, and when they are fully mature, the spores are ejected outward in a directed flow through the hole formed in the pycnidia (Fig. 14).

Spores of *S. linicola*, despite the different sources of their formation – from single conidiophores to pycnidia – have the same morphological characteristics, within the margin of error, which facilitates the identification of the pathogen. These are colorless, rod-shaped, straight or slightly curved spores, with rounded ends, with one to three well-defined septa. In our study, the spore size was 16.8–28 (40) × 1.8–3.1 μm (Fig. 15). Morphological characteristics of conidia are the main diagnostic parameter in the identification of pasmo disease of flax.

Spores germinate easily in warm water, forming slingshot structures (Fig. 16a). Deformed spores can also be seen, where one of several spore cells grows into a chlamydo-spore-like structure (Fig. 16b).

During the exit from the pycnidia, the pycnospores are surrounded by an oily viscous liquid, and in

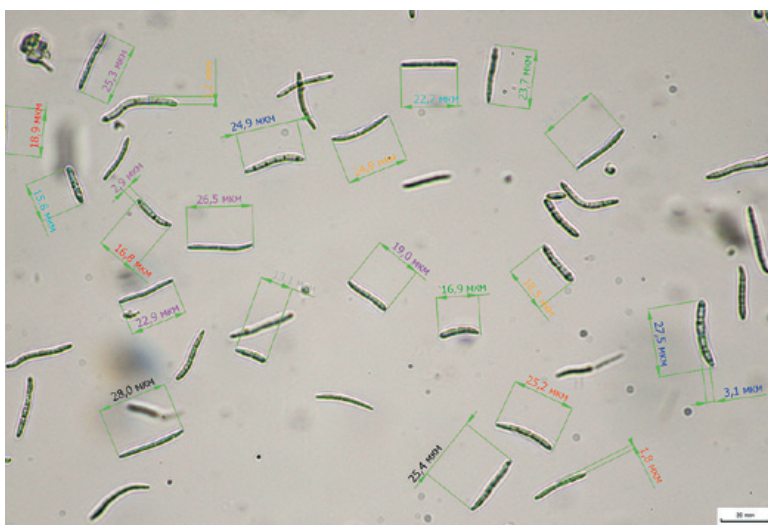


Рис. 15. Споры *Septoria linicola* (фото авторов)

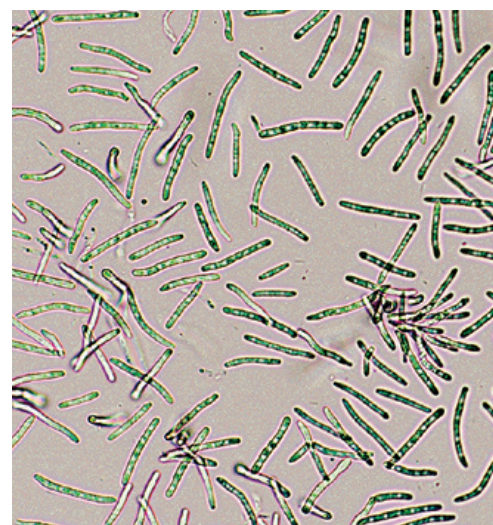


Fig. 15. Spores of *Septoria linicola* (photos by the authors)

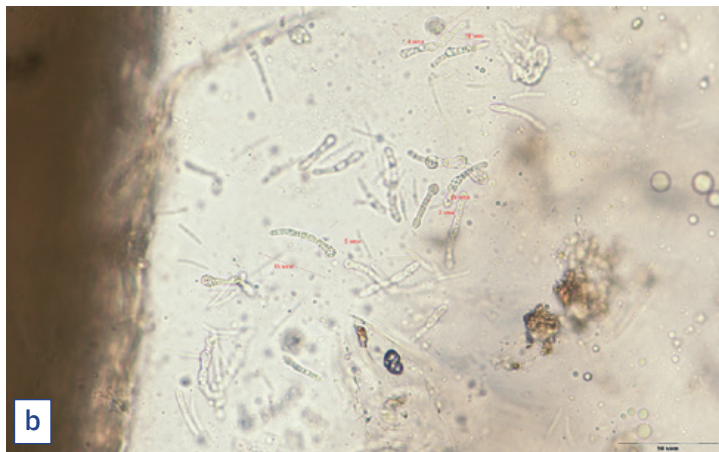


Рис. 16: а – прорастающие споры *Septoria linicola*;
б – деформированные споры *Septoria linicola* (фото авторов)

Fig. 16: а – germinating spores of *Septoria linicola*;
б – deformed spores of *Septoria linicola* (photos by the authors)

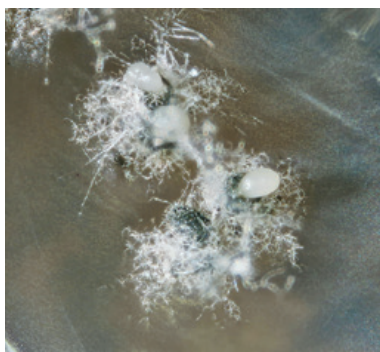


Рис. 17. Спираль и усики споридальной массы (фото авторов)

Fig. 17. Spirals and antennae of the sporoid mass (photos by the authors)

зараженных стеблей льна нам удалось выделить и наблюдать вышедшие из псевдотеций аскоспоры. Это были бесцветные, прямые или немного изогнутые споры, с одной поперечной перегородкой и несколькими каплями масла в каждой клетке. Размеры спор составили 12–18 x 3–4,7 мкм. Размеры псевдотеций на гербарных образцах – примерно 130 мкм в диаметре (рис. 21 а, б).

order to get rid of it, the spores need drop-liquid moisture in the form of irrigation or rain. With drops of water, pycnosporos fall on healthy flax plants, germinate and infect them. Therefore, the spread of the disease in the field is focal. In the air, the exudate with spores solidifies in the form of drops, spirals or antennae (Fig. 17). The released exudate emits a faint fruity odor that attracts insects that feed on it. After feeding on a diseased plant, insects fly to neighboring healthy plants and infect them

with spores of the pathogen adhering during feeding.

The selectivity of the life cycle, depending on external conditions, is also evidenced by a little experience conducted in the framework of the study. During the observation of the growth of colonies for 20 days, it was noted that the colonies did not form pycnidia, although sporulation was abundant, which indicates sufficient viability of the colony. Pieces of flax stems were inoculated with spores of the studied samples and placed in Petri dishes on malt agar (Fig. 18). Already on the 4th day, clearly visible pycnidia with droplets of emerging spores formed on the pieces of stems (Fig. 19), while pycnidia were absent on agar media for a long time. The formation of pycnidia, along with other factors, confirms that the studied isolates belong to the less aggressive physiological form “A”, which is widespread in the world and, in particular, in Russia.

As noted above, the ascigerous stage of development of the fungus is rarely observed. At the end of the summer-autumn period, pseudothecia with ascospores in bags are formed on diseased plants along with pycnidia. Unlike translucent pycnidia immersed in the substrate, pseudothecia are located on the surface and have a darker, almost black color (Fig. 3). In spring, under favorable conditions, ascospores emerge from pseudothecia and, together with pycnosporos that have emerged from overwintered pycnidia, infect



Рис. 18. Инокулированные кусочки стеблей льна на солодовом агаре (фото авторов)

Fig. 18. Inoculated pieces of flax stems on malt agar (photo by the authors)



Рис. 19. Сформировавшиеся на инфицированном (*in vitro*) растительном материале льна пикниды (слева) с конидиальным экссудатом (справа) (фото авторов)



Fig. 19. Pycnidia formed on infected (*in vitro*) plant material of flax (left) with conidial exudate (right) (photos by the authors)



Рис. 20. Пикниды на 28-дневной культуре *Septoria linicola* (2%-й КГА) (фото авторов)



Fig. 20. Pycnidia on a 28-day culture of *Septoria linicola* (2% PDA) (photos by the authors)

В силу того, что сумчатая стадия развития патогена фиксируется крайне редко, морфологические характеристики аскоспор в диагностике заболевания практически не используются.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования подтвердили возможность точной идентификации *S. linicola* биологическим методом путем анализа его культурально-морфологических характеристик. Кратко основные моменты идентификации возбудителя

emerging flax plants. When studying herbarium samples of infected flax stems, we were able to isolate and observe ascospores emerging from pseudothecia. They were colorless, straight or slightly curved spores, with one transverse septum and a few drops of oil in each cell. The spore sizes were 12–18 x 3–4.7 μm. The dimensions of pseudothecia on herbarium specimens are approximately 130 μm in diameter (Fig. 21 a, b). Due to the fact that the ascigerous stage of pathogen development is recorded extremely rarely, the morphological characteristics of ascospores are practically not used in the diagnosis of the disease.

CONCLUSION

The conducted studies confirmed the possibility of accurate identification of *S. linicola* by biological method by analyzing its cultural and morphological characters. Briefly, the main points of pathogen identification by this method can be characterized as follows:

1. Pure cultures of *S. linicola* have characteristic features and

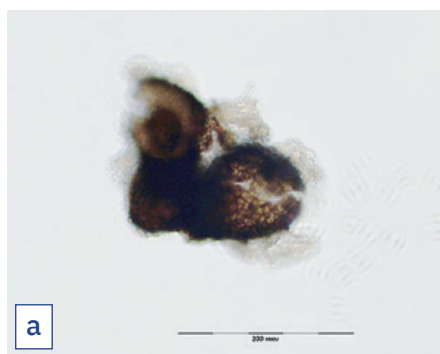


Рис. 21: а – псевдотеций *Mycosphaerella linicola*; б – аскоспоры *Mycosphaerella linicola* (фото авторов)



Fig. 21: а – *Mycosphaerella linicola* pseudothecium; б – *Mycosphaerella linicola* ascospores (photos by the authors)

этим методом можно охарактеризовать следующим образом:

1. Чистые культуры *S. linicola* имеют характерные особенности и отличаются своим внешним видом и динамикой роста от культур других возбудителей, которые можно встретить на семенах и растениях льна.

2. Отличительной особенностью развития этого гриба является совокупность нескольких типов спороношения – от свободных конидиеносцев до открытых и в разной степени закрытых лож, производящих конидии, включая меланконидальные ложа и пикниды. В зрелых колониях эти типы спороношения, в различных сочетаниях, могут присутствовать одновременно, образуя смешанный тип спороношения.

3. Вне зависимости от типа спороношения конидии *S. linicola* имеют одинаковые параметры и отличаются по своим характеристикам от спор других возбудителей, поражающих растения льна.

4. Единичные конидии, по которым можно идентифицировать возбудителя, появляются уже на 3-й день развития колонии. На 5-й день, когда появляется темный мицелий и образуются меланконидальные ложа, интенсивность спорообразования заметно увеличивается.

5. Развитие колонии может протекать неоднозначно. Пикниды на агаризованных средах могут образовываться в различные сроки – от 10 до 30 дней развития колонии (рис. 20), а могут не образовываться вовсе. Но споры как диагностический материал будут присутствовать в любом случае.

При культурально-морфологическом исследовании развития *S. linicola* на различных питательных средах наилучшие результаты в получении необходимых диагностических признаков показали такие среды, как солодово-дрожжевой агар и 2%-й КГА.

Несомненным плюсом биологического метода является то, что он позволяет охватить и увидеть всю широту нюансов, которые бывают недоступны при использовании других методов. Например, определение физиологической формы изолята, определение жизнеспособности колонии и стадии ее развития. Сложность метода заключается в необходимости наличия опыта работы с данным объектом и знания его биологических особенностей. В первую очередь это связано с неоднозначностью прохождения цикла развития возбудителя и не совсем обычными для пикнидиальных грибов типами спороношения. Сложность возникает также при получении из растительного материала чистой культуры возбудителя, так как, имея низкие темпы роста, колония *S. linicola* легко забивается другими, быстрорастущими видами.

Применяя этот метод в нашем исследовании, мы получили возможность более наглядно изучить и продемонстрировать некоторые аспекты биологии и морфологии данного организма, на наш взгляд, недостаточно представленные и освещенные в других источниках.

Благодарность. За содействие в работе выражаем искреннюю благодарность сотрудникам ФГБУ «ВНИИКР»: Кондратьеву Максиму Олеговичу, Потаниной Софье Олеговне, Цветковой Юлии Владиславовне.

differ in their appearance and growth dynamics from cultures of other pathogens that can be found on flax seeds and plants.

2. A distinctive feature of the development of this fungus is the combination of several types of sporulation – from free conidiophores to open and to varying degrees closed lodges that produce conidia, including melanconial lodges and pycnidia. In mature colonies, these types of sporulation, in various combinations, can be present simultaneously, forming a mixed type of sporulation.

3. Regardless of the type of sporulation, *S. linicola* conidia have the same parameters and differ in their characteristics from spores of other pathogens that infect flax plants.

4. Single conidia, by which the pathogen can be identified, appear already on the 3rd day of colony development. On the 5th day, when dark mycelium appears and melanconial lodges are formed, the intensity of sporulation increases sharply.

5. The development of a colony can be ambiguous. Pycnidia on agar media can form at different times, from 10 to 30 days of colony development (Fig. 20), or they may not form at all. But disputes as diagnostic material will be present in any case.

In a cultural and morphological study of the development of *S. linicola* on various nutrient media, the best results in obtaining the necessary diagnostic characters were shown by such media as malt-yeast agar and 2% PDA.

The undisputable advantage of the biological method is that it allows you to capture and see the full range of nuances that are not available when using other methods. For example, determining the physiological form of the isolate, determining the viability of the colony and the stage of its development. The complexity of the method lies in the need for experience with this object and knowledge of its biological characteristics. First of all, this is due to the ambiguity of the development cycle of the pathogen and the types of sporulation that are not quite common for pycnidial fungi. Difficulty also arises when obtaining a pure culture of the pathogen from plant material, since, having a low growth rate, the colony of *S. linicola* is easily contaminated with other, fast-growing species.

By applying this method in our study, we were able to more clearly study and demonstrate some aspects of the biology and morphology of this organism, which, in our opinion, are insufficiently presented and covered in other sources.

Acknowledgement. For assistance in the work, we express our sincere gratitude to the specialists of FGBU “VNIICR”: Kondratiev Maxim Olegovich, Potanina Sofya Olegovna, Tsvetkova Yulia Vladislavovna.

REFERENCES

1. Vasilievsky N. On the biology of *Septoria ribis* Desm. on black currant [K biologii *Septoria ribis* Desm. na chernoy smorodine]. *Plant diseases*, 1924; 1: 10–14 (in Russian).
2. Vakhrusheva T. The study of varietal uniformity of flax to pasmo disease [Izucheniye sortovoy

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Васильевский Н., 1924. К биологии *Septoria ribis* Desm. на черной смородине. – Журнал «Болезни растений», № 1: 10–14.
2. Вахрушева Т., 1985. Изучение сортовой однородности льна к пасмо. – Бюллетень ВИР, № 154: 63–65.
3. Курчакова Л. Эколого-генетические аспекты устойчивости льна к септориозу (пасмо) в селекции льна-долгунца: дисс. д-ра. с.-х. наук: 06.01.05. – М., 2009. 315 с.
4. Натальина О., 1931. Предварительное сообщение о болезни льна, вызываемой грибом *Phlyctaena linicola* S. и обнаруженной на Дальнем Востоке летом 1930 г. – Защита растений, VIII, 2: 177–182.
5. Примаковская М., 1971. Пасмо льна. – Защита растений, № 2: 49–50.
6. Проценко Е., 1964. Сборник по карантину растений. – М.: Колос, 1964. № 16: 5–63.
7. Anselme C., 1960. Recherches sur le pasmo des lines a huile. – Ann. Epiphyt., 2 (11): 201–215.
8. Garassini L., 1938. Ubicacion generica del micromicete que produce el “pasmo” del lino. – Revista de la Fac. de Agronomia de La-Plata, Vol. 23: 45.
9. Harris H., 1935. Morphologic studies of *Septoria lycopersici*. – Phytopathology, 25: 790–799.
10. Paumier D. et al., 2020. First report of the sexual stage of the flax pathogen *Mycosphaerella linicola* in France and its impact on pasmo epidemiology. – Plant pathology, 70 (2). URL: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156984>.
11. Rataj K., 1953. *Septoria linicola* (Speg.) Gar. v Československu. – Sbornik Československé Akademie Zemedelskýck. Ved, № 3: 229–243.
12. Spegazzini C., 1911. *Phlyctena linicola* Speg. (n. f.). Mycetes Argentinenses. – Annales del Museo Nacional de Buenos Aires. Ser. III, 13: 389–390.
13. Spegazzini C., 1911. Mycetes Argentinenses (Series V). – Anales del Museo Nacional de Historia Natural Buenos Aires. Series III, 13: 329–467.
14. Wollenweber H., 1938. “*Sphaerelle linicola*” n. sp. Die Ursache der Amerikanischer Leinpest. (Pasma – oder “Septoria” – Krankheit). – Revista de Botanica del Instituto Miguel Lillo, Lilloa. Tucuman Argentina, 2: 483–495.
15. Пасмо льна [Электронный ресурс]. – URL: <https://betaren.ru/harmful/bolezni/bolezni-lina/pasmo/> (дата обращения: 04.03.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Дудченко Ирина Петровна, старший научный сотрудник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-0169-414X, e-mail: dudchenko_irina@vniikr.ru.

Щуковская Анастасия Геннадиевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-9787-8351, e-mail: schukovskaya.a@vniikr.ru.

Дудченко Геннадий Николаевич, агроном редакционно-издательского отдела ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: dudchenko_gennadiy@vniikr.ru.

odnorodnosti lina k pasmo]. *VIR Bulletin*, 1985; 154: 63–65 (in Russian).

3. Kurchakova L. Ecological and genetic aspects of flax resistance to Septoria (pasmo) in fiber flax breeding [Ekologo-geneticheskiye aspekty ustoychivosti lina k septoriozu (pasmo) v seleksii lina-dolguntsa]: diss. PhD in Agriculture: 06.01.05. M. 2009: 315 p. (in Russian).

4. Natalina O. Preliminary report on flax disease caused by the fungus *Phlyctaena linicola* S., and discovered in the Far East in the summer of 1930 [Predvaritelnoye soobshcheniye o bolezni lina, vyzyvayemoy gribkom *Phlyctaena linicola* S. i obnaryuzhennoy na Dal'nem Vostoke letom 1930]. *Plant protection*, 1931; VIII, 2: 177–182 (in Russian).

5. Primakovskaya M. Pasma disease of flax [Pasma lina]. *Plant protection*, 1971; 2: 49–50 (in Russian).

6. Protsenko E. Collection of plant quarantine [Sbornik po karantinu rasteniy]. M. Kolos, 1964; 16: 5–63 (in Russian).

7. Anselme C. Recherches sur le pasmo des lines a huile. *Ann. Epiphyt.*, 1960; 2 (11): 201–215.

8. Garassini L. Ubicacion generica del micromicete que produce el “pasmo” del lino. *Revista de la Fac. de Agronomia de La-Plata*, 1938; 23: 45.

9. Harris H. Morphologic studies of *Septoria lycopersici*. *Phytopathology*, 1935; 25: 790–799.

10. Paumier D. et al. First report of the sexual stage of the flax pathogen *Mycosphaerella linicola* in France and its impact on pasmo epidemiology. *Plant pathology*, 2020; 70 (2). URL: <https://doi.org/10.1101/2020.06.17.156984>.

11. Rataj K. *Septoria linicola* (Speg.) Gar. v Československu. *Sbornik Československé Akademie Zemedelskýck. Ved*, 1953; 3: 229–243.

12. Spegazzini C. *Phlyctena linicola* Speg. (n. f.). Mycetes Argentinenses. *Annales del Museo Nacional de Buenos Aires*. 1911; III, 13: 389–390.

13. Spegazzini C. Mycetes Argentinenses (Series V). *Anales del Museo Nacional de Historia Natural Buenos Aires*. 1911; III, 13: 329–467.

14. Wollenweber H. “*Sphaerelle linicola*” n. sp. Die Ursache der Amerikanischer Leinpest (Pasma – oder “Septoria” – Krankheit). *Revista de Botanica del Instituto Miguel Lillo*, Lilloa. Tucuman Argentina, 1938; 2: 483–495.

15. Pasma disease of flax [Electronic resource]. URL: <https://betaren.ru/harmful/bolezni/bolezni-lina/pasmo/> (last accessed: 04.03.2022) (in Russian).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina Dudchenko, Senior Researcher, Mycology and Helminthology Research and Methodology Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-0169-414X, e-mail: dudchenko_irina@vniikr.ru.

Anastasia Schukovskaya, PhD in Biology, Senior Researcher, Forest Quarantine Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-9787-8351, e-mail: schukovskaya.a@vniikr.ru.

Gennady Dudchenko, Agronomist, Editorial and Publishing Department, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: dudchenko_gennadiy@vniikr.ru.

Диагностика вирусов рода *Tobamovirus*, заражающих пасленовые овощные культуры

Е.Н. ЛОЗОВАЯ¹, Ю.Н. ПРИХОДЬКО²,
Т.С. ЖИВАЕВА³, Ю.А. ШНЕЙДЕР⁴, Е.В. КАРИМОВА⁵

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

¹ e-mail: evgeniyaf@mail.ru

² e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

³ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-7565-1241,

e-mail: yury.shneyder@mail.ru

⁵ ORCID 0000-0001-6474-8913,

e-mail: elenavkar@mail.ru

АННОТАЦИЯ

Тобамовирусы мозаики томата (ToMV), табачной мозаики (TMV), коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV), слабой крапчатости перца (PMMoV), слабой зеленой мозаики табака (TMGMV) являются опасными патогенами пасленовых овощных культур в открытом и защищенном грунте. Потери урожая томата и перца в результате заражения этими патогенами могут достигать 100%. Раннее выявление зараженных партий семян и очагов этих вирусов имеет важнейшее значение для предотвращения их быстрого распространения. В ходе исследований выполнена оценка специфичности семи тест-систем для иммуноферментного анализа (ИФА) к TMV, ToMV, TMGMV и PMMoV ведущих фирм-производителей. Проведена отработка полимеразной цепной реакции (ПЦР) с 21 парой универсальных и видоспецифичных праймеров. Определены праймеры, позволяющие проводить универсальное выявление комплекса тобамовирусов на пасленовых овощных культурах. Проведена отработка двух методик мультиплексной ПЦР для выявления и идентификации нескольких вирусов одновременно. Осуществлен скрининг праймеров в отношении их специфичности к TMV, ToMV, TMGMV и PMMoV. Разработаны собственные праймеры, характеризующиеся высокой специфичностью к TMV и ToMV.

Ключевые слова. Тобамовирусы, выявление и идентификация, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, тест-системы, праймеры.

ВВЕДЕНИЕ

Род *Tobamovirus* в настоящее время объединяет 39 вирусов (Adams et al., 2012). В соответствии с генетической структурой, кругом растений-хозяев и филогенетическим родством, эти вирусы подразделяются на 8 подгрупп, заражающих

Diagnosis of *Tobamovirus* genus viruses infecting Solanaceae

E.N. LOZOVAYA¹, YU.N. PRIKHODKO²,
T.S. ZHIVAEVA³, YU.A. SHNEYDER⁴, E.V. KARIMOVA⁵

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

¹ e-mail: evgeniyaf@mail.ru

² e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru

³ e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-7565-1241,

e-mail: yury.shneyder@mail.ru

⁵ ORCID 0000-0001-6474-8913,

e-mail: elenavkar@mail.ru

ABSTRACT

Tomato mosaic virus (ToMV), Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), Pepper mild mottle virus (PMMoV), Tobacco mild green mosaic virus (TMGMV) are serious pests of Solanaceae in open and protected ground. Yield losses of tomato and pepper as a result of infection with these pathogens can reach 100%. Early detection of infected seed lots and outbreaks of these viruses is essential to prevent their rapid spread. In the course of the research, the specificity of seven test systems for enzyme immunoassay (ELISA) to TMV, ToMV, TMGMV and PMMoV of leading manufacturers was evaluated. The polymerase chain reaction (PCR) was tested with 21 pairs of universal and species-specific primers. Primers have been identified that allow universal detection of the tobamovirus complex on Solanaceae crops. Two methods of multiplex PCR were tested to detect and identify several viruses simultaneously. The primers were screened for their specificity for TMV, ToMV, TMGMV and PMMoV. Proprietary primers with high specificity for TMV and ToMV were developed.

Key words. Tobamoviruses, detection and identification, enzyme immunoassay, polymerase chain reaction, test systems, primers.

INTRODUCTION

At present, *Tobamovirus* genus involves 39 viruses (Adams et al., 2012). According to the genetic structure, range of host plants and phylogenetic relationship, these viruses are divided into 8 subgroups that infect plants of the families Solanaceae, Brassicaceae, Cactaceae, Apocynaceae, Cucurbitaceae, Malvaceae, Leguminosae and Passifloraceae, respectively (Li et al., 2017).

растения семейств Solanaceae, Brassicaceae, Cactaceae, Аросynaceae, Cucurbitaceae, Malvaceae, Leguminosae и Passifloraceae соответственно (Li et al., 2017).

Согласно литературным данным, растения перца заражают Bell pepper mottle virus (BPeMV), Obuda pepper virus (ObPV), Paprika mild mottle virus (PaMMV), Pepper mild mottle virus (PMMoV), Ribgrass mosaic virus (RMV), Tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), Tobacco mosaic virus (TMV) и Tomato mosaic virus (ToMV) (Smith, Dombrovsky, 2019; Hančinský et al., 2020).

Растения томата заражают TMGMV, ToBRFV, TMV, ToMV и Tomato mottle mosaic virus (ToMMV), из которых наиболее важное экономическое значение имеют TMV, ToMV, ToBRFV и ToMMV.

Растения баклажана заражают TMGMV, TMV, ToMV и ToMMV (Smith, Dombrovsky, 2019; Hančinský et al., 2020).

ToBRFV является карантинным объектом для стран Евразийского экономического союза и Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР), а ToMMV включен в Сигнальный перечень ЕОКЗР.

Все тобамовирусы имеют сходные биологические свойства. Эффективно распространяются с инфицированными семенами, водой, почвенными субстратами, питательными растворами и т. п. Благодаря уникальной структуре вирионов тобамовирусы в течение многих лет сохраняют инфекционность вне растений-хозяев, в том числе на картоне, стекле, пластике, металлах, поддонах для овощей, упаковочном материале, инструментах, транспортных средствах, сельскохозяйственном оборудовании, одежде рабочих и т. д. (Broadbent, Fletcher, 1963; Reingold et al., 2016; Smith, Dombrovsky, 2019). TMV сохраняет жизнеспособность в табачном дыме (Lucas, 1975). ToMV выявляли в ледниках Гренландии (Castello et al., 1999), облаках и тумане (Castello et al., 1995), морской воде (Kegler et al., 1994) и т. п.

Заражение тобамовирусами происходит контактным способом, когда возникают малейшие механические повреждения корней и кутикулы листьев, неизбежно появляющиеся под влиянием различных биотических и абиотических факторов, но особенно часто в ходе проведения сельскохозяйственных работ.

Тобамовирусы мозаики томата (ToMV) и табачной мозаики (TMV) широко распространены в Российской Федерации (Чанг, 2013). В связи с ежегодным значительным объемом импорта семян и плодов баклажана, томата и перца из зарубежных стран высока вероятность проникновения в РФ и других тобамовирусов, заражающих пасленовые культуры.

Диагностика тобамовирусов до вида сопряжена со значительными сложностями, обусловленными высокой аналогией их биологических, серологических и генетических свойств. ToMV, TMGMV, PMMoV и несколько других тобамовирусов первоначально были описаны лишь в качестве штаммов TMV и были выделены в валидные виды только после детального изучения их геномов.

Характерной особенностью эпидемиологии тобамовирусов является возможность наличия

According to the literature, pepper plants are infected by Bell pepper mottle virus (BPeMV), Obuda pepper virus (ObPV), Paprika mild mottle virus (PaMMV), Pepper mild mottle virus (PMMoV), Ribgrass mosaic virus (RMV), Tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), Tobacco mosaic virus (TMV) and Tomato mosaic virus (ToMV) (Smith, Dombrovsky, 2019; Hančinský et al., 2020).

Tomatoes are infected with TMGMV, ToBRFV, TMV, ToMV and Tomato mottle mosaic virus (ToMMV), of which the most important economic value have TMV, ToMV, ToBRFV and ToMMV.

Eggplants are infected with TMGMV, TMV, ToMV and ToMMV (Smith, Dombrovsky, 2019; Hančinský et al., 2020).

ToBRFV is a quarantine object for the countries of the Eurasian Economic Union and the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), and ToMMV is included in the EPPO Alert List.

All tobamoviruses have similar biological properties. They efficiently spread with infected seeds, water, soil substrates, nutrient solutions, etc. Due to the unique structure of the virions, tobamoviruses remain infective outside of host plants for many years, including on cardboard, glass, plastic, metals, vegetable trays, packaging material, tools, vehicles, agricultural equipment, workers' clothing, etc. (Broadbent, Fletcher, 1963; Reingold et al., 2016; Smith, Dombrovsky, 2019). TMV remains viable in tobacco smoke (Lucas, 1975). ToMV were detected in the glaciers of Greenland (Castello et al., 1999), clouds and fog (Castello et al., 1995), sea water (Kegler et al., 1994), etc.

Infection with tobamoviruses occurs by contact, when the slightest mechanical damage to the roots and cuticle of the leaves occurs, which inevitably appears under the influence of various biotic and abiotic factors, but especially often during agricultural work.

Tobamo mosaic viruses (ToMV) and tobacco mosaic viruses (TMV) are widespread in the Russian Federation (Chang, 2013). Due to the significant annual import of seeds and fruits of eggplant, tomato and pepper from other countries, there is a high probability of introduction into the Russian Federation of other tobamoviruses infecting Solanaceae.

Diagnosis of tobamoviruses to species level is associated with significant difficulties due to the high similarity of their biological, serological, and genetic properties. ToMV, TMGMV, PMMoV and several other tobamoviruses were originally described only as strains of TMV and were isolated into valid species only after a detailed study of their genomes.

A characteristic feature of the epidemiology of tobamoviruses is the possibility of both their mixed infection and the ability to infect plants together with viruses of other taxonomic groups. Therefore, the generally accepted approach in the diagnosis of viruses in vegetable crops is the use of universal primers at the first stage, which allows the detection of all viruses of the genus, followed by the use of species-specific primers at the second stage for their identification. In addition, an important element in the diagnosis of tobamoviruses is the differentiation of closely related TMV,

как их смешанной инфекции, так и способности заражать растения совместно с вирусами других таксономических групп. Поэтому общепринятым подходом в диагностике вирусов на овощных культурах является использование на первом этапе универсальных праймеров, позволяющих осуществлять выявление всех вирусов рода с последующим применением на втором этапе видоспецифичных праймеров для их идентификации. Кроме того, важным элементом диагностики тобамовирусов является дифференциация близкородственных TMV, ToMV, TMGMV и ToBRFV, в связи с этим все более широко применяется мультиплексная ПЦР, позволяющая в одном тесте осуществлять выявление двух и более объектов. Для корректной идентификации тобамовирусов до вида необходима детальная оценка специфичности используемых диагностических антисывороток и праймеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе научного подразделения ФГБУ «ВНИИКР» в 2020–2021 гг. Основными объектами исследований являлись вирусы рода *Tobamovirus*, заражающие овощные культуры: мозаики томата (ToMV), табачной мозаики (TMV), коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV), слабой (или мягкой) крапчатости перца (PMMoV), слабой крапчатости паприки (PaMMV), крапчатости белого перца (BPeMV), слабой зеленой мозаики табака (TMGMV), зеленой крапчатой мозаики огурца (CGMMV) и зеленой крапчатой мозаики цукини (ZGMMV). Эксперименты проводили со следующими референтными изолятами тобамовирусов из коллекции DSMZ (Германия): TMV PV-0107, PV-0055, PV-1199 и PV-1195, ToMV PV-1180, PV-0141, PV-0143 и PV-0846, CGMMV PC-0375, TMGMV PV-0124, PV-0110 и PV-1112, PMMoV PV-0093 и PV-0166, ToBRFV PV-1244, PaMMV PV-0606 и BPeMV PC-0170, а также с положительными контролями для ИФА к TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV и ZGMMV фирм Adgen (Великобритания) и Loewe (Германия).

Для серологического метода диагностики была проведена оценка специфичности диагностических наборов для ИФА к TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV, ToBRFV и CGMMV ведущих фирм-производителей. Оценку специфичности проводили со всеми имеющимися изолятами тобамовирусов. Тесты проводили согласно прилагаемым к наборам инструкциям фирм-производителей.

Для выделения нуклеиновых кислот использовали набор «Проба-НК» (ООО «АгроДиагностика», Россия).

Для проведения реакции обратной транскрипции для синтеза первой цепи кДНК исследуемых вирусов использовали следующие комплекты реагентов, согласно прилагаемым инструкциям:

- 1) «MMLV RT Kit» (ЗАО «Евроген», Россия);
- 2) «Комплект реагентов для обратной транскрипции» («АгроДиагностика», Россия).

Для проведения ПЦР использовали следующие наборы реагентов: «Multiplex PCR Kit» (Qiagen, США); «Screen Mix-HS» («Евроген», Россия); «5x Mas^{DD} TaqMix-2025» (ЗАО «Диалат Лтд.», Россия) и праймеры, указанные в таблице 1.

Термоциклические режимы использовали в соответствии с инструкциями фирм – производителей наборов.

ToMV, TMGMV, and ToBRFV; therefore, multiplex PCR is increasingly being used, which makes it possible to detect two or more objects in one test. For the correct identification of tobamoviruses to the species level, a detailed assessment of the specificity of the diagnostic antisera and primers used is required.

MATERIALS AND METHODS

The studies were carried out on the basis of the research department of VNIICR in 2020–2021. The main objects of research were viruses of the genus *Tobamovirus* infecting vegetable crops: Tomato mosaic virus (ToMV), Tobacco mosaic virus (TMV), Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), Pepper mild mottle virus (PMMoV), Paprika mild mottle virus (PaMMV), Bell pepper mottle virus (BPeMV), Tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV), and Zucchini green mottle mosaic virus (ZGMMV). The experiments were carried out with the following reference tobamovirus isolates from the DSMZ collection (Germany): TMV PV-0107, PV-0055, PV-1199 and PV-1195, ToMV PV-1180, PV-0141, PV-0143 and PV-0846, CGMMV PC-0375, TMGMV PV-0124, PV-0110 and PV-1112, PMMoV PV-0093 and PV-0166, ToBRFV PV-1244, PaMMV PV-0606 and BPeMV PC-0170, as well as with positive controls for ELISA to TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV and ZGMMV by Adgen (Great Britain) and Loewe (Germany).

For the serological diagnostic method, the specificity of diagnostic kits for ELISA for TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV, ToBRFV and CGMMV of leading manufacturers was evaluated. Specificity assessment was performed with all available tobamovirus isolates. The tests were carried out according to the manufacturer's instructions supplied with the kits.

For the isolation of nucleic acids, the Proba-NK kit (AgroDiagnostica, Russia) was used.

To carry out the reverse transcription reaction for the synthesis of the first strand cDNA of the studied viruses, the following reagent kits were used, according to the attached instructions:

- 1) MMLV RT Kit (Evrogen, Russia);
- 2) Reagent kit for reverse transcription (AgroDiagnostica, Russia).

For PCR, the following reagent kits were used: Multiplex PCR Kit (Qiagen, USA); Screen Mix-HS (Evrogen, Russia); 5x Mas^{DD} TaqMix-2025 (Dialat Ltd., Russia) and primers listed in Table 1.

Thermal cycling modes were used in accordance with the instructions of the manufacturers of the kits.

The primers ToMV-2PF/ToMV-1PR developed by the authors are complementary to the ToMV coat protein gene region and amplify the 433 bp product. The analysis carried out using the Primer-BLAST program showed that these primers are complementary to the genome regions of 90 ToMV isolates deposited in the GenBank NCBI database, which makes it possible to identify a larger number of isolates of Russian origin.

To carry out the amplification reaction, a C1000 Touch thermal cycler (Bio-Rad, USA) was used.

PCR results were detected by electrophoresis in 1.5% agarose gel. The magnitude of the amplification

Таблица 1

Характеристика праймеров, испытанных для проведения ПЦР на наличие вирусов овощных культур

Table 1

Characteristics of the primers tested for PCR for the presence of vegetable viruses

Название праймера Primer	Последовательность 5'→3' Sequence 5'→3'	Длина продукта (п. н.) Product length (bp)	Автор Author
TobamoF	GCWAAGGTKGTWYTBGTRGAYGG	880	Li et.al., 2014
TobamoR	GTAATTGCTATTGDGTWCCWGC		
TobRT up1	GAR TAY SCI GCI YTI CAR AC	568	Dovas et al., 2004
TobRT do2	BGC YTC RAA RTT CCA		
Tob-Uni2 F	GTGTTGATGAGTTCRTGGA	804	Alishiri et al., 2013
Tob-Uni1 R	ATTTAAGTGGASGGAAAVCACT		
TOBAMO-S1	GGGAATCAGTTTCAAACRCA	560	Menzel et al., 2019
TOBAMO-AS1	GGGGGGATTCTGAACCYCT		
Tobamo-CP(F)	GWCGCSGATCBGATTCGT WTTAAATATG	750	Sharma et al., 2014
Tobamo-CP(R)	TGGGCCSCTACCSGSGG		
Tob F-5476	GAAGAAGTTGTTGATGAGTTCAT	808	Levitzky et al., 2019
Tob R-6287	GATTTAAGTGGAGGGAAAAACAC		
ToMV-F	CATCTGTATGGGCTGAC	421	Chen et al., 2011
ToMV-R	GAGGTCCARACCAAMCCAG		
ToMV-F1	CTC CAT CGT TCACAC TCG TTA CT	508	Gumus, Paylan, 2013
ToMV-R1	GATCTGTCAAAG TCT GAGAAA CTT C		
ToMV-F3	CGAGAGGGGCAACAAACAT	318	Kumar et al., 2011
ToMV-R3	ACCTGTCTCCATCTCTTTGG		
ToMV FM	GTTTCATTGTGCTGTTGAGTAC	362	Yan et al., 2021
ToMV RM	AGAAGTACCCATATTGCTTCTTG		
ToMV-2PF	TCTGTATGGGCTGACCCTGT	433	В рамках данной работы As part of this work
ToMV-1PR	AAGATGCAGGTGCAGAGGTC		
TMV-F3	CGACATCAGCCGATGCAGC	880	Kumar et al., 2011
TMV-R3	ACCGTTTTTCGAACCGAGACT		
TMV-F2	ATTAGACCGCTAGTCACAGCAC	84	Yang et al., 2012
TMV-R2	GTGGGGTTTCGCCTGATTTT		
TMV-MP-F	ATGGCTCTAGTTGTTAAAGG	807	Zhu et al., 2020
TMV-MP-R	TAAAAACGAATCCGATTTCGG		
TMV 8PF-1	GTTCTTGTCATCAGCGTGG	448	В рамках данной работы As part of this work
TMV 3PR	ACCTCAAGTTCAGGACCAG		
TMV FM	TGTGCAACACTCCGCRAAT	999	Yan et al., 2021
TMV RM	CGGTTCGAGATCGAAAC		
ToBRFV FM	CTTCCAAACGTGTACGCAC	604	Yan et al., 2021
ToBRFV RM	GTCGAGAGATATGTCGAATAGA		
TMV-spec	CGGTCAAGTCCGAACAAGAA	690	Letschert et al., 2002
ToMV-spec	CGGAAGGCCTAAACCAAAAAG	694	
TMGMV-spec	AARTAAATAAYAGTGGTAAGAAGGG	720	
Tob-Uni1 R	ATTTAAGTGGASGGAAAVCACT	525	Kim et al., 2006
TMGMV CPTMF-F	TCGAGTACGTTTAAATCAAT		
TMGMV CPTMG-R	ATTTTAGGAAATCTCACAAC	65	Haramoto et al., 2013
PMMV-FP1- rev	GAGTGGTTTACCTTAACGTTTG		
PMMV-RP1	TTG TCG GTT GCA ATG CAA GT		

Таблица 2

Определение специфичности тест-систем для ИФА к TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV разных фирм-производителей

Table 2

Determination of the specificity of test systems for ELISA to TMV, ToMV, TMGMV, PMMoV from different manufacturers

Тобамовирусы Tobamoviruses	Тест-системы для ИФА Test systems for ELISA						
	TMV		ToMV			TMGMV	PMMoV
	Loewe	DSMZ	DSMZ	Adgen	Agdia	Loewe	Loewe
TMV	+	+	+/-	+	+/-	+/-	-
ToMV	-	+/-	+	+	+	+/-	-
TMGMV	-	-	+/-	+	+/-	+	+/-
ToBRFV	-	-	-	+	+	-	-
PMMoV	-	-	-	+	+/-	+	+
PaMMV	-	-	-	-	-	-	-
BPeMV	-	+/-	-	+	+	+	+/-
CGMMV	-	-	-	+/-	-	-	+/-
ZGMMV	-	-	-	-	-	-	+/-

«+» – достоверный сероположительный сигнал;

«+/-» – слабый недостоверный положительный сигнал;

«-» – отсутствие сероположительного сигнала.

“+” – reliable seropositive signal; “+/-” – weak unreliable positive signal;

“-” – no seropositive signal.

Разработанные авторами праймеры ToMV-2PF/ToMV-1PR комплементарны участку гена белка оболочки ToMV и амплифицируют продукт величиной 433 п. н. Анализ, проведенный с помощью программы Primer-BLAST, показал, что эти праймеры комплементарны участкам генома 90 изолятов ToMV, депонированных в базу данных GenBank NCBI, что позволяет выявлять большее количество изолятов российского происхождения.

Для проведения реакции амплификации использовали термоциклер C1000 Touch (Bio-Rad, США).

Детекцию результатов ПЦР осуществляли с помощью электрофореза в 1,5%-м агарозном геле. Величину продуктов амплификации измеряли, используя маркеры молекулярного веса ДНК GeneRuler™ 100+ п. н. и Fast Ruler™ (оба – Thermo Fisher Scientific, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В процессе изучения серологического метода диагностики была установлена высокая специфичность тест-системы для ИФА к TMV фирмы Loewe (Германия). Эта тест-система реагировала со всеми испытуемыми изолятами целевого объекта (TMV) с высокими значениями экстинкции. Перекрестной реакции этой тест-системы со всеми изолятами близкородственных тобамовирусов не наблюдалось (табл. 2).

По результатам проведенных испытаний было установлено, что большинство тест-систем для ИФА к тобамовирусам неспецифичны, ввиду чего их целесообразно использовать лишь для

products was measured using GeneRuler™ 100+ bp DNA molecular weight markers. and Fast Ruler™ (both from Thermo Fisher Scientific, USA).

RESULTS OF THE RESEARCH

While studying the serological diagnostic method, a high specificity of the test system for ELISA for TMV from Loewe (Germany) was established. This test system reacted with all test isolates of the target object (TMV) with high extinction values. No cross-reaction of this test system with all isolates of closely related tobamoviruses was observed (Table 2).

According to the results of the tests, it was found that most of the test systems for ELISA for tobamoviruses are non-specific, which is why it is advisable to use them only for preliminary tests for the presence of these pathogens, followed by analysis of seropositive samples by PCR with species-specific primers. An exception is the TMV ELISA test system from Loewe (Germany), which can be used both for screening tests and for TMV identification.

To work out the diagnosis of tobamoviruses to the genus level, the universal primers Tobamo-CP(F)/

Tobamo-CP(R) (Sharma et al., 2014), Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014), TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), Tob F-5476/Tob R-6287 (Levitzky et al., 2019) and primers included in the “Tobamovirus Group PCR Primer Mix” diagnostic kit (Agdia, USA) were tested.

Based on the results of the experiments, it was found that to detect the complex of tobamoviruses on Solanaceae crops, it is advisable to use the universal primers TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), which are characterized by the widest spectrum of action.

Universal primers Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014), and TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), as well as diagnostic kit “Tobamovirus Group PCR Primer Mix” allow to effectively diagnose TMV, ToMV and TMGMV. Primers Tob F-5476/Tob R-6287 (Levitzky et al., 2019) require additional experiments.

For the primers TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), the optimal test procedure was determined with RNA isolation using the Proba-NK kit (AgroDiagnostica), cDNA synthesis with the MMLV RT Kit (Evrogen) and PCR with the 5x MasDD TaqMix-2025 kit (Dialat Ltd.) (Fig. 1).

Studies were performed using duplex PCR for the simultaneous detection of TMV and ToMV using a combination of primers TMV-F3/TMV-R3 and ToMV-F3/

предварительных тестов на наличие этих патогенов с последующим анализом сероположительных образцов методом ПЦР с видоспецифичными праймерами. Исключением является тест-система для ИФА к TMV фирмы Loewe (Германия), которая может быть использована как для проведения скрининговых тестов, так и для идентификации TMV.

Для того чтобы отработать диагностику тобамовирусов до рода, было проведено испытание универсальных праймеров Tobamo-CP(F)/Tobamo-CP(R) (Sharma et al., 2014), Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014), TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), Tob F-5476/Tob R-6287 (Levitzky et al., 2019) и праймеров, входящих в диагностический набор «Tobamovirus Group PCR Primer Mix» (Agdia, США).

По результатам проведенных экспериментов установлено, что для выявления комплекса тобамовирусов на пасленовых овощных культурах целесообразно использовать универсальные праймеры TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), характеризующиеся наиболее широким спектром действия.

Универсальные праймеры Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014) и TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), а также диагностический набор «Tobamovirus Group PCR Primer Mix» позволяют эффективно диагностировать TMV, ToMV и TMGMV. Для праймеров Tob F-5476/Tob R-6287 (Levitzky et al., 2019) необходимо проведение дополнительных экспериментов.

Для праймеров TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004) определена оптимальная методика проведения тестов с выделением РНК набором «Проба-НК» («АгроДиагностика»), синтезом кДНК набором «MMLV RT Kit» («Евроген») и проведения ПЦР с набором «5x MasDD TaqMix-2025» («Диа-лат Лтд.») (рис. 1).

Проведены исследования с применением дуплексной ПЦР для одновременного выявления TMV и ToMV с использованием комбинации праймеров TMV-F3/TMV-R3 и ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011) (рис. 2). После испытания нескольких наборов реагентов для ПЦР выявлен оптимальный вариант с использованием набора реагентов «Multiplex PCR Kit» (Qiagen) для проведения ПЦР. Данный тест был успешно апробирован для выявления TMV и ToMV на томате в нескольких овощеводческих хозяйствах РФ.

Проведены испытания мультиплексного теста для одновременного выявления TMV, ToMV и ToBRFV. Установлена высокая видоспецифичность используемых в этом тесте праймеров TMV FM/TMV RM, ToMV FM/ToMV RM и ToBRFV FM/ToBRFV RM (Yan et al., 2021), которые реагировали лишь с изолятами целевых объектов. Определен оптимальный вариант проведения этого теста с использованием набора «Multiplex PCR Kit» (Qiagen) для проведения ПЦР и набора для обратной транскрипции фирмы «АгроДиагностика».

В формате классической ОТ-ПЦР¹ было проведено испытание трех пар праймеров, разработанных для выявления тобамовируса мозаики томата: ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011), ToMV-спец/

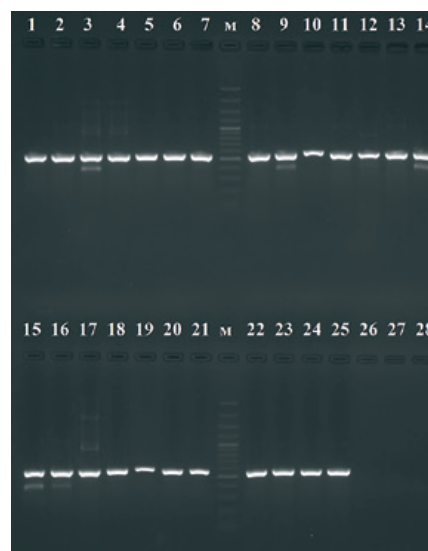


Рис. 1. Реакция праймеров ToBRT up1/ToBRT do2 (Dovas et al., 2004) с изолятами различных тобамовирусов. Образцы: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055; 3 – TMV PV-1199; 4 – TMV PV-1195; 5 – ToMV PC-0135; 6 – ToMV PV-1180; 7 – ToMV PV-0141; 8 – ToMV PV-0143; 9 – ToMV PV-0846; 10 – CGMMV PC-0375; 11 – TMGMV PV-0124; 12 – TMGMV PV-0110; 13 – TMGMV PV-1112; 14 – PMMoV PV-0093; 15 – PMMoV PV-0166; 16 – PaMMV PV-0606; 17 – BPeMV PC-0170 (все – DSMZ); 18 – ZGMMV PC07167 (Loewe); 19 – CGMMV 07022 PC (Loewe); 20 – PMMoV 07096 PC (Loewe); 21 – TMGMV 07176 PC (Loewe); 22 – TMV 1065-11 (Adgen); 23 – ToMV 1070-11 (Adgen); 24 – TMV (МГУ); 25 – ToBRFV PV-1244 (DSMZ); 26–28 – К (вода); М – маркеры молекулярной массы.

Fig. 1. Reaction of primers ToBRT up1/ToBRT do2 (Dovas et al., 2004) with isolates of various tobamoviruses. Samples: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055; 3 – TMV PV-1199; 4 – TMV PV-1195; 5 – ToMV PC-0135; 6 – ToMV PV-1180; 7 – ToMV PV-0141; 8 – ToMV PV-0143; 9 – ToMV PV-0846; 10 – CGMMV PC-0375; 11 – TMGMV PV-0124; 12 – TMGMV PV-0110; 13 – TMGMV PV-1112; 14 – PMMoV PV-0093; 15 – PMMoV PV-0166; 16 – PaMMV PV-0606; 17 – BPeMV PC-0170 (all – DSMZ); 18 – ZGMMV PC07167 (Loewe); 19 – CGMMV 07022 PC (Loewe); 20 – PMMoV 07096 PC (Loewe); 21 – TMGMV 07176 PC (Loewe); 22 – TMV 1065-11 (Adgen); 23 – ToMV 1070-11 (Adgen); 24 – TMV (MSU); 25 – ToBRFV PV-1244 (DSMZ); 26–28 – K (water); M – molecular weight markers.

ToMV-R3 (Kumar et al., 2011) (Fig. 2). After testing several PCR reagent kits, the best option was identified using the Multiplex PCR Kit (Qiagen) for PCR. This test has been successfully tested to detect TMV and ToMV on tomato in several vegetable farms in the Russian Federation.

A multiplex test was tested for the simultaneous detection of TMV, ToMV and ToBRFV. The primers TMV FM/TMV RM, ToMV FM/ToMV RM, and ToBRFV FM/ToBRFV RM (Yan et al., 2021) used in this test were

¹ ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией.

Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002) и ToMV-2PF/ToMV-1PR (НМОВБ ВНИИКР²).

По результатам проведенных экспериментов установлена недостаточно высокая видоспецифичность праймеров ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011), что ограничивает возможность их использования для проведения подтверждающих тестов на наличие ToMV.

Для праймеров ToMV-спис/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002) и разработанных нами праймеров ToMV-2PF/ToMV-1PR установлена высокая специфичность к ToMV (рис. 3), что позволяет рекомендовать эти праймеры для проведения подтверждающих тестов на наличие ToMV.

Для разработки подтверждающего теста на наличие тобамовируса мозаики табака (TMV) проведено испытание шести пар праймеров, комплементарных различным участкам генома этого вируса: TMV-F2/TMV-R2 (Yang et al., 2012), TMV-спис/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002), TMV-F3/TMV-R3 (Kumar et al., 2011), TMV 8PF-1/TMV 3PR (НМОВБ ВНИИКР), TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020) и TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021) (рис. 3). Установлено, что наиболее высокой специфичностью к целевому объекту (TMV) характеризуются праймеры TMV-F2/TMV-R2 (Yang et al., 2012), TMV 8PF-1/TMV 3PR (НМОВБ ВНИИКР) (рис. 3), TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020) и TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021), которые не реагировали со всеми изолятами нецелевых тобамовирусов.

Для диагностики TMGMV проведено испытание праймеров TMGMV CPTMF-F/TMGMV CPTMG-R (Kim et al., 2006) и TMGMV-спис/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002). Установлена возможность эффективного использования праймеров TMGMV CPTMF-F/TMGMV CPTMG-R (Kim et al., 2006) для высокоспецифичного выявления TMGMV.

Констатирована высокая специфичность к PMMoV праймеров PMMV-FP1-rev/ PMMV-RP1 (Nagamoto et al., 2013). Установлена возможность эффективного использования этих праймеров в форматах 2-этапной классической ОТ-ПЦР и 2-этапной Eva Green ОТ-ПЦР-PB³.

ВЫВОДЫ

По результатам проведенных испытаний семи тест-систем для ИФА к TMV, ToMV, ToBRFV, TMGMV и PMMoV нескольких фирм-производителей установлена недостаточно высокая специфичность большинства из них к целевым объектам. Исключением является тест-система для ИФА к TMV фирмы Loewe (Германия), которая может быть использована как для проведения скрининговых тестов, так и для идентификации TMV. Остальные тест-системы целесообразно использовать лишь для предварительных скрининговых тестов на наличие тобамовирусов с последующим анализом сероположительных образцов методом ПЦР с видоспецифичными праймерами.

Установлено, что для выявления комплекса тобамовирусов на овощных культурах целесообразно использовать универсальные праймеры TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), характеризующиеся

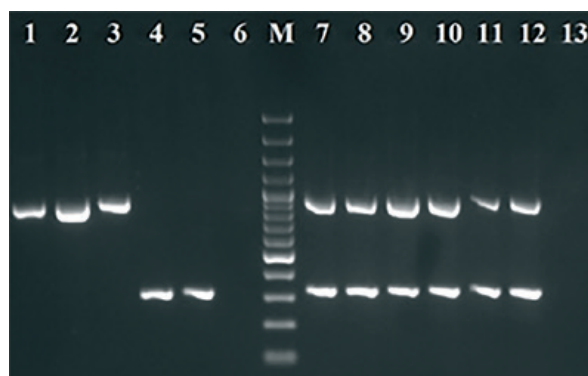


Рис. 2. Электрофореграмма. Выявление ToMV и TMV методом 2-этапной мультиплексной ОТ-ПЦР с использованием комбинации праймеров TMV-F3/TMV-R3 и ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011). Образцы: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055; 3 – TMV PV-1199; 4 – ToMV PC-0135; 5 – ToMV PV-1180; 6 – TMGMV PV-0124; 7 – TMV PV-0107 + ToMV PC-0135; 8 – TMV PV-0107 + ToMV PV-1180; 9 – TMV PV-0055 + ToMV PC-0135; 10 – TMV PV-0055 + ToMV PV-1180; 11 – TMV PV-1199 + ToMV PC-0135; 12 – TMV PV-1199 + ToMV PV-1180; 13 – К (вода); М – маркеры молекулярного массы.

Fig. 2. Electropherogram. Detection of ToMV and TMV by 2-step multiplex RT-PCR using a combination of primers TMV-F3/TMV-R3 and ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011). Samples: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055; 3 – TMV PV-1199; 4 – ToMV PC-0135; 5 – ToMV PV-1180; 6 – TMGMV PV-0124; 7 – TMV PV-0107 + ToMV PC-0135; 8 – TMV PV-0107 + ToMV PV-1180; 9 – TMV PV-0055 + ToMV PC-0135; 10 – TMV PV-0055 + ToMV PV-1180; 11 – TMV PV-1199 + ToMV PC-0135; 12 – TMV PV-1199 + ToMV PV-1180; 13 – K (water); M – molecular weight markers.

found to be highly species-specific and reacted only with isolates of the target objects. The optimal variant of this test was determined using the Multiplex PCR Kit (Qiagen) for PCR and the reverse transcription kit (AgroDiagnostica).

Three pairs of primers designed to detect tobamovirus were tested in the classical RT-PCR format: ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011), ToMV-спис/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002) and ToMV-2PF/ToMV-1PR (VBRMD VNIIEK^{*}).

According to the results of the experiments, the insufficiently high species specificity of the primers ToMV-F3/ToMV-R3 (Kumar et al., 2011) was established, which limits the possibility of their use for confirmatory tests for the presence of ToMV.

The primers ToMV-спис/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002) and the primers ToMV-2PF/ToMV-1PR developed by us showed a high specificity for ToMV (Fig. 3), which makes it possible to recommend these primers for carrying out confirmatory tests for availability of ToMV.

^{*} VBRMD VNIIEK – Virology and Bacteriology Research and Methodology Department, FGBU “VNIIEK”.

² НМОВБ ВНИИКР – научно-методический отдел вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР».

³ PB – в реальном времени.

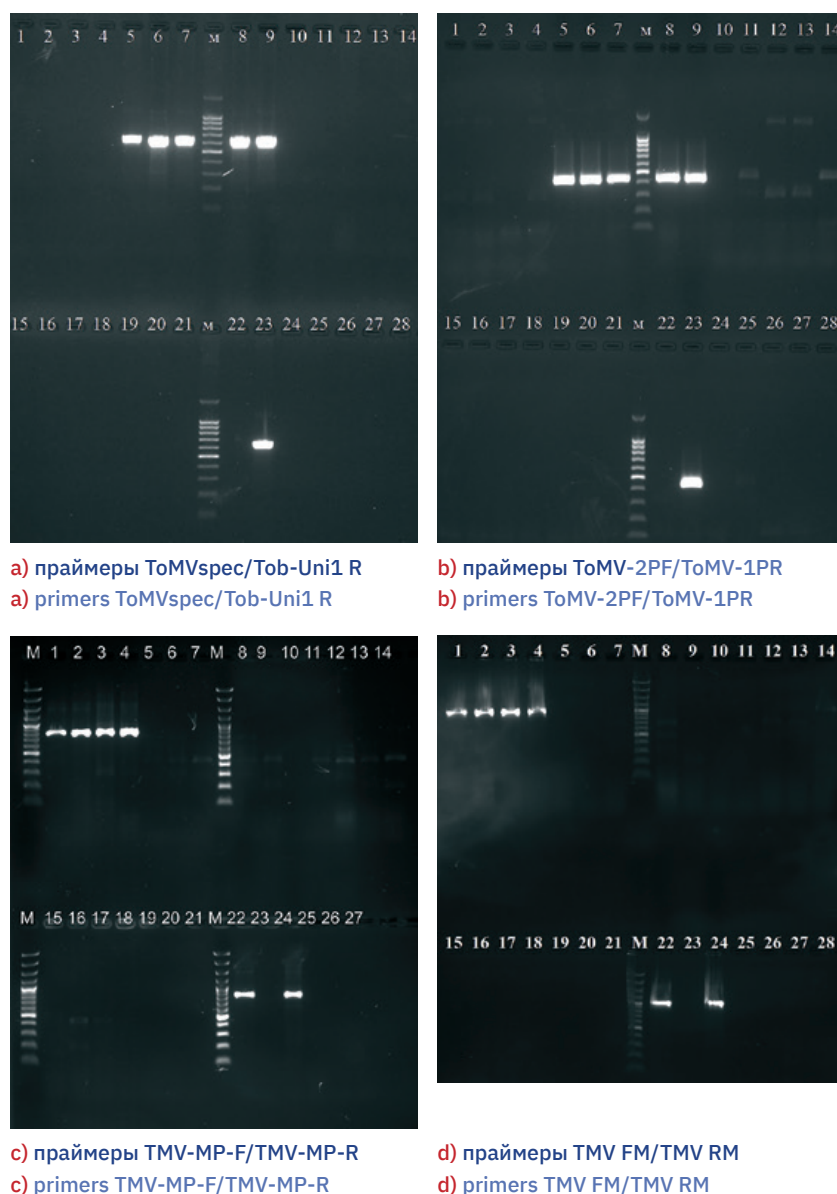


Рис. 3. Электрофореграмма. ПЦР с праймерами:
(a) ToMVspec/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002),
(b) ToMV-2PF/ToMV-1PR (НМОВБ ВНИИКР),
(c) TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020) и (d) TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021)
с изолятами различных тобамовирусов.
Образцы: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055;
3 – TMV PV-1199; 4 – TMV PV-1195; 5 – ToMV PC-0135; 6 – ToMV PV-1180;
7 – ToMV PV-0141; 8 – ToMV PV-0143; 9 – ToMV PV-0846; 10 – CGMMV PC-0375;
11 – TMGMV PV-0124; 12 – TMGMV PV-0110; 13 – TMGMV PV-1112;
14 – PMMoV PV-0093; 15 – PMMoV PV-0166; 16 – PaMMV PV-0606;
17 – BPeMV PC-0170 (все – DSMZ); 18 – ZGMMV PC07167 (Loewe);
19 – CGMMV 07022 PC (Loewe); 20 – PMMoV 07096 PC (Loewe);
21 – TMGMV 07176 PC (Loewe); 22 – TMV 1065-11 (Adgen);
23 – ToMV 1070-11 (Adgen); 24 – TMV (МГУ); 25 – ToBRFV PV-1244 (DSMZ);
26–28 – К (вода); М – маркеры молекулярного веса.

Fig. 3. Electrophoregram. PCR with primers:
(a) ToMVspec/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002),
(b) ToMV-2PF/ToMV-1PR (VBRMD VNIKR),
(c) TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020)
and (d) TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021) with isolates of various tobamoviruses.
Samples: 1 – TMV PV-0107; 2 – TMV PV-0055; 3 – TMV PV-1199; 4 – TMV PV-1195;
5 – ToMV PC-0135; 6 – ToMV PV-1180; 7 – ToMV PV-0141; 8 – ToMV PV-0143;
9 – ToMV PV-0846; 10 – CGMMV PC-0375; 11 – TMGMV PV-0124;
12 – TMGMV PV-0110; 13 – TMGMV PV-1112; 14 – PMMoV PV-0093;
15 – PMMoV PV-0166; 16 – PaMMV PV-0606; 17 – BPeMV PC-0170 (all – DSMZ);
18 – ZGMMV PC07167 (Loewe); 19 – CGMMV 07022 PC (Loewe);
20 – PMMoV 07096 PC (Loewe); 21 – TMGMV 07176 PC (Loewe);
22 – TMV 1065-11 (Adgen); 23 – ToMV 1070-11 (Adgen); 24 – TMV (MSU);
25 – ToBRFV PV-1244 (DSMZ); 26–28 – K (water); M – molecular weight markers.

To develop a confirmatory test for the presence of tobacco mosaic virus (TMV), six pairs of primers complementary to different regions of the genome of this virus were tested: TMV-F2/TMV-R2 (Yang et al., 2012), TMV-spec/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002), TMV-F3/TMV-R3 (Kumar et al., 2011), TMV 8PF-1/TMV 3PR (VBRMD VNIKR), TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020) and TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021) (Fig. 3). It has been established that primers are characterized by the highest specificity to the target object (TMV) are TMV-F2/TMV-R2 (Yang et al., 2012), TMV 8PF-1/TMV 3PR (VBRMD VNIKR) (Fig. 3), TMV-MP-F/TMV-MP-R (Zhu et al., 2020) and TMV FM/TMV RM (Yan et al., 2021), that did not react with all non-target tobamovirus isolates.

To diagnose TMGMV, the primers TMGMV CPTMF-F/TMGMV CPTMG-R (Kim et al., 2006) and TMGMV-spec/Tob-Uni1 R (Letschert et al., 2002) were tested. The possibility of effective use of primers TMGMV CPTMF-F/TMGMV CPTMG-R (Kim et al., 2006) for highly specific detection of TMGMV has been established.

The primers PMMoV-FP1-rev/ PMMoV-RP1 were found to be highly specific for PMMoV (Haramoto et al., 2013). The possibility of effective use of these primers in the formats of 2-stage classical reverse-transcription PCR and 2-stage Eva Green reverse-transcription RT-PCR was established.

CONCLUSION

Based on the results of testing seven test systems for ELISA for TMV, ToMV, ToBRFV, TMGMV and PMMoV from several manufacturers, insufficiently high specificity of most of them to target objects was established. An exception is the TMV ELISA test system from Loewe (Germany), which can be used both for screening tests and for TMV identification. The rest of the test systems should be used only for preliminary screening tests for the presence of tobamoviruses with subsequent analysis of seropositive samples by PCR with species-specific primers.

It has been established that to detect the tobamovirus complex on vegetable crops, it is advisable to use the universal primers TobRT up1/TobRT do2 (Dovas et al., 2004), which are characterized by the widest

наиболее широким спектром действия. Для выявления TMV, ToMV и TMGMV на пасленовых овощных культурах целесообразно использовать универсальные праймеры Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014) и TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), а также диагностический набор «Tobamovirus Group PCR Primer Mix».

Проведена отработка дуплексного теста для одновременного выявления TMV и ToMV, а также мультиплексного теста для одновременного выявления TMV, ToBRFV и ToMV. Проведенные эксперименты с использованием мультиплексной ПЦР свидетельствуют о несомненной перспективности мультиплексного теста по методике Yan et al. (2021) и целесообразности проведения дополнительных исследований.

Для объективной диагностики TMV, ToMV и TMGMV проведено испытание шести, пяти и двух пар видоспецифичных праймеров соответственно. Определены высокоспецифичные праймеры, реагирующие лишь с изолятами целевых объектов. К их числу относятся праймеры TMV 8PF-1/TMV 3PR и ToMV-2PF/ToMV-1PR, разработанные в ФГБУ «ВНИИР».

Благодарность. Авторы выражают свою признательность сотрудникам научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИР» за помощь в проведении исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чанг Н.Х.Т.К. Распространение и патогенез вирусных заболеваний томата в условиях Вьетнама и России: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2013. – 22 с.
2. Adams M., Heinze C., Jackson A., Kreuze J., Macfarlane S., Torrance L., 2012. Genus *Tobamovirus*. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (ed). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. – Elsevier Academic Press, London, United Kingdom: 1153–1156.
3. Alishiri A., Rakhshandehroo F., Zamanizadeh H.-R., & Palukaitis P., 2013. Prevalence of Tobacco mosaic virus in Iran and evolutionary analyses of the coat protein gene. – The Plant Pathology Journal, 29 (3): 260–273. URL: <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2012.0145>.
4. Broadbent L., Fletcher J.T., 1963. The epidemiology of tomato mosaic: IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. – Annals of Applied Biology, 52: 233–241.
5. Castello J., Lakshman D., Tavantzis S., Rogers S., Bachand G., Jagels R., Carlisle J., Liu Y., 1995. Detection of infectious Tomato mosaic tobamovirus in fog and clouds. – Ecology and Epidemiology, 85 (11): 1409–1412.
6. Castello J., Rogers S., Starmer W., Catranis C., Ma L., Bachand G., Zhao Y., Smith J., 1999. Detection of Tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. – Polar Biology, 22: 207–212. URL: <https://doi.org/10.1007/s003000050411>.
7. Chen S., Gu H., Wang X., Chen J., Zhu W., 2011. Multiplex RT-PCR detection of Cucumber mosaic virus

spectrum of action. To detect TMV, ToMV and TMGMV on Solanaceae, it is advisable to use universal primers Tob-Uni2 F/Tob-Uni1 R (Alishiri et al., 2013), TobamoF/TobamoR (Li et al., 2014) and TOBAMO-S1/TOBAMO-AS1 (Menzel et al., 2019), as well as the diagnostic kit “Tobamovirus Group PCR Primer Mix”.

A duplex test for the simultaneous detection of TMV and ToMV, as well as a multiplex test for the simultaneous detection of TMV, ToBRFV and ToMV, were developed. The experiments performed using multiplex PCR indicate the undoubted promise of the multiplex test according to the method of Yan et al. (2021) and the feasibility of additional research.

For an objective diagnosis of TMV, ToMV, and TMGMV, six, five, and two pairs of species-specific primers, respectively, were tested. Highly specific primers that react only with target object isolates have been determined. These include primers TMV 8PF-1/TMV 3PR and ToMV-2PF/ToMV-1PR, developed at VNIIR.

Acknowledgement. The authors express their gratitude to the staff of Virology and Bacteriology Research and Methodology Department, FGBU “VNIIR” for their help in conducting research.

REFERENCES

1. Chang N.H.T.K. Distribution and pathogenesis of viral diseases of tomato in the conditions of Vietnam and Russia: Ph.D. diss. ... cand. biol. Sciences. M., 2013; 22 p.
2. Adams M., Heinze C., Jackson A., Kreuze J., Macfarlane S., Torrance L. Genus *Tobamovirus*. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.J. (ed). Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Elsevier Academic Press, London, United Kingdom, 2012: 1153–1156.
3. Alishiri A., Rakhshandehroo F., Zamanizadeh H.-R., & Palukaitis P. Prevalence of Tobacco mosaic virus in Iran and evolutionary analyses of the coat protein gene. *The Plant Pathology Journal*, 2013; 29 (3): 260–273. URL: <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2012.0145>.
4. Broadbent L., Fletcher J.T. The epidemiology of tomato mosaic: IV. Persistence of virus on clothing and glasshouse structures. *Annals of Applied Biology*, 1963; 52: 233–241.
5. Castello J., Lakshman D., Tavantzis S., Rogers S., Bachand G., Jagels R., Carlisle J., Liu Y. Detection of infectious Tomato mosaic tobamovirus in fog and clouds. *Ecology and Epidemiology*, 1995; 85 (11): 1409–1412.
6. Castello J., Rogers S., Starmer W., Catranis C., Ma L., Bachand G., Zhao Y., Smith J. Detection of Tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. *Polar Biology*, 1999; 22: 207–212. URL: <https://doi.org/10.1007/s003000050411>.
7. Chen S., Gu H., Wang X., Chen J., Zhu W. Multiplex RT-PCR detection of Cucumber mosaic virus subgroups and Tobamoviruses infecting Tomato using 18S rRNA as an internal control. *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 2011; 43: 465–471.

subgroups and Tobamoviruses infecting Tomato using 18S rRNA as an internal control. – *Acta Biochim. Biophys. Sin.*, 43: 465–471.

8. Dovas C., Efthimiou K., Katis N., 2004. Generic detection and differentiation of tobamoviruses by a spot nested RT-PCR-RFLP using dI-containing primers along with homologous dG-containing primers. – *J. Virol. Methods*, 117: 137–144.

9. Gumus M., Paylan I., 2013. Detection of viruses in seeds of some vegetables by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). – *African Journal of Biotechnology*, 12 (25): 3891–3897.

10. Hančinský R., Mihálik D., Mrkvová M., Candresse T., Glasa M., 2020. Plant viruses infecting Solanaceae family members in the cultivated and wild environments: a review. – *Plants*, 9 (5): 667. URL: <https://doi.org/10.3390/plants9050667>.

11. Haramoto E., Kitajima M., Kishida N., Konno Y., Katayama H., Asami M., Akiba M., 2013. Occurrence of Pepper Mild Mottle Virus in Drinking Water Sources in Japan. – *Applied and Environmental Microbiology*, 79 (23): 7413–7418.

12. Kegler H., Fuchs E., Knapp H.D., Ehrig F., 1994. Untersuchungen zum vorkommen pflanzenpathogener Viren im Naturschutzgebiet Insel Vilm (Biosphärenreservat Südost-Rügen). – *Arch Phytopathol Plant Protect*, 29: 211–216.

13. Kim J., Choi G., Kim J., Lee S., Choi J., Ryu K., 2006. Development of single-tube multiplex immunocapture RT-PCR assay for simultaneous detection of two pepper tobamoviruses. – *Plant Pathol. J.*, 22: 164–167.

14. Kumar S., Shankar A., Nayaka S., Lund O., Prakash H., 2011. Detection of Tobacco mosaic virus and Tomato mosaic virus in pepper and tomato by multiplex RT-PCR. – *Letters in Applied Microbiology*, 53 (3): 359–363.

15. Letschert B., Adam G., Lesemann D., Willingmann P., Heinze C., 2002. Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. – *J. Virol. Methods*, 106: 1–10. URL: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(02\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00135-0).

16. Levitzky N., Smith E., Lachman O., Luria N., Mizrahi Y. et al., 2019. The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. – *PLOS ONE*, 14 (1): e0210871. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210871>.

17. Li Y., Wang C., Xiang D., Li R., Liu Y., Li F., 2014. First Report of Tomato mottle mosaic virus infection of pepper in China. – *Plant Disease*, 98 (10): 1447.

18. Li Y., Wang Y., Hu J., Xiao L., Tan G., Lan P., Liu Y., Li F., 2017. The complete genome sequence, occurrence and host range of Tomato mottle mosaic virus Chinese isolate. – *Virology Journal*, 14: 15: 1–9. URL: <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0676-2>.

19. Lucas G., 1975. Diseases of tobacco, 3rd Edition. – Raleigh, North Carolina, USA: Biological Consulting Associates. 621 p.

20. Menzel W., Knierim D., Winter S., Hamacher J., Heupel M., 2019. First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany. – *New Disease Reports*, 39: 1. URL: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.001>.

21. Reingold V., Lachman O., Belausov E., Koren A., Mor N., Dombrovsky A., 2016. Epidemiological

8. Dovas C., Efthimiou K., Katis N. Generic detection and differentiation of tobamoviruses by a spot nested RT-PCR-RFLP using dI-containing primers along with homologous dG-containing primers. *J. Virol. Methods*, 2004; 117: 137–144.

9. Gumus M., Paylan I. Detection of viruses in seeds of some vegetables by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *African Journal of Biotechnology*, 2013; 12 (25): 3891–3897.

10. Hančinský R., Mihálik D., Mrkvová M., Candresse T., Glasa M. Plant viruses infecting Solanaceae family members in the cultivated and wild environments: a review. *Plants*, 2020; 9 (5): 667. URL: <https://doi.org/10.3390/plants9050667>.

11. Haramoto E., Kitajima M., Kishida N., Konno Y., Katayama H., Asami M., Akiba M. Occurrence of Pepper Mild Mottle Virus in Drinking Water Sources in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013; 79 (23): 7413–7418.

12. Kegler H., Fuchs E., Knapp H.D., Ehrig F. Untersuchungen zum vorkommen pflanzenpathogener Viren im Naturschutzgebiet Insel Vilm (Biosphärenreservat Südost-Rügen). *Arch Phytopathol Plant Protect*, 1994; 29: 211–216.

13. Kim J., Choi G., Kim J., Lee S., Choi J., Ryu K. Development of single-tube multiplex immunocapture RT-PCR assay for simultaneous detection of two pepper tobamoviruses. *Plant Pathol. J.*, 2006; 22: 164–167.

14. Kumar S., Shankar A., Nayaka S., Lund O., Prakash H. Detection of Tobacco mosaic virus and Tomato mosaic virus in pepper and tomato by multiplex RT-PCR. *Letters in Applied Microbiology*, 2011; 53 (3): 359–363.

15. Letschert B., Adam G., Lesemann D., Willingmann P., Heinze C. Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. *J. Virol. Methods*, 2002; 106: 1–10. URL: [https://doi.org/10.1016/s0166-0934\(02\)00135-0](https://doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00135-0).

16. Levitzky N., Smith E., Lachman O., Luria N., Mizrahi Y. et al., The bumblebee *Bombus terrestris* carries a primary inoculum of Tomato brown rugose fruit virus contributing to disease spread in tomatoes. *PLOS ONE*, 2019; 14 (1): e0210871. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210871>.

17. Li Y., Wang C., Xiang D., Li R., Liu Y., Li F. First Report of Tomato mottle mosaic virus infection of pepper in China. *Plant Disease*, 2014; 98 (10): 1447.

18. Li Y., Wang Y., Hu J., Xiao L., Tan G., Lan P., Liu Y., Li F. The complete genome sequence, occurrence and host range of Tomato mottle mosaic virus Chinese isolate. *Virology Journal*, 2017; 14: 15: 1–9. URL: <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0676-2>.

19. Lucas G. Diseases of tobacco, 3rd Edition. Raleigh, North Carolina, USA: Biological Consulting Associates, 1975; 621 p.

20. Menzel W., Knierim D., Winter S., Hamacher J., Heupel M. First report of Tomato brown rugose fruit virus infecting tomato in Germany. *New Disease Reports*, 2019; 39: 1. URL: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.001>.

21. Reingold V., Lachman O., Belausov E., Koren A., Mor N., Dombrovsky A. Epidemiological study

study of Cucumber green mottle mosaic virus in greenhouses enables reduction of disease damage in cucurbit production. – *Annals of Applied Biology*, 168: 29–40.

22. Sharma P., Verma R., Mishra R., Sahu A., Choudhary D., Gaur R., 2014. First report of Cucumber green mottle mosaic virus association with the leaf green mosaic disease of a vegetable crop, *Luffa acutangula* L. – *Acta virologica*, 58: 299–300. URL: https://doi.org/10.4149/av_2014_03_299.

23. Smith E., Dombrovsky, A. 2019. Aspects in *Tobamovirus* Management in Intensive Agriculture. In: (Ed.), *Plant Diseases – Current Threats and Management Trends*. IntechOpen. URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.87101>.

24. Yan Z., Zhao M., Ma H., Liu L., Yang G., Geng C., Tian Y., Li X., 2021. Biological and molecular characterization of Tomato brown rugose fruit virus and development of quadruplex RT-PCR detection. – *Journal of Integrative Agriculture*, 20 (7): 1871–1879.

25. Yang J., Wang F., Chen D., Shen L., Qian Y., Liang Z., Zhou W., Ya T., 2012. Development of a one-step immunocapture Real-time RT-PCR assay for detection of Tobacco mosaic virus in soil. – *Sensors* (Basel, Switzerland), 12: 16685–16694. URL: <https://doi.org/10.3390/s121216685>.

26. Zhu P.-X., Zhang Q.-P., Ji Z.-L., Zhu F., 2020. First report of Tobacco mosaic virus infecting *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. var. *clavata* Makino in China. – *Journal of Plant Pathology*, 102: 1293. URL: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00574-7>.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Лозовая Евгения Николаевна, научный сотрудник отдела аспирантуры ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: evgeniyaf@mail.ru.

Приходько Юрий Николаевич, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru.

Живаева Татьяна Степановна, научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru.

Шнейдер Юрий Андреевич, кандидат биологических наук, начальник научно-методического и экспериментального центра, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru.

Каримова Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник – начальник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-6474-8913, e-mail: elenavkar@mail.ru.

of Cucumber green mottle mosaic virus in greenhouses enables reduction of disease damage in cucurbit production. *Annals of Applied Biology*, 2016; 168: 29–40.

22. Sharma P., Verma R., Mishra R., Sahu A., Choudhary D., Gaur R. First report of Cucumber green mottle mosaic virus association with the leaf green mosaic disease of a vegetable crop, *Luffa acutangula* L. *Acta virologica*, 2014; 58: 299–300. URL: https://doi.org/10.4149/av_2014_03_299.

23. Smith E., Dombrovsky, A. Aspects in *Tobamovirus* Management in Intensive Agriculture. In: (Ed.), *Plant Diseases – Current Threats and Management Trends*. IntechOpen, 2019. URL: <https://doi.org/10.5772/intechopen.87101>.

24. Yan Z., Zhao M., Ma H., Liu L., Yang G., Geng C., Tian Y., Li X. Biological and molecular characterization of Tomato brown rugose fruit virus and development of quadruplex RT-PCR detection. *Journal of Integrative Agriculture*, 2021; 20 (7): 1871–1879.

25. Yang J., Wang F., Chen D., Shen L., Qian Y., Liang Z., Zhou W., Ya T. Development of a one-step immunocapture Real-time RT-PCR assay for detection of Tobacco mosaic virus in soil. *Sensors* (Basel, Switzerland), 2021; 12: 16685–16694. URL: <https://doi.org/10.3390/s121216685>.

26. Zhu P.-X., Zhang Q.-P., Ji Z.-L., Zhu F. First report of Tobacco mosaic virus infecting *Lagenaria siceraria* (Molina) Standl. var. *clavata* Makino in China. *Journal of Plant Pathology*, 2020; 102: 1293. URL: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00574-7>.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Evgenia Lozovaya, Researcher of Post-Graduate Studies Department, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: evgeniyaf@mail.ru.

Yuri Prikhodko, PhD in Agriculture, Leading Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: prihodko_yuri59@mail.ru.

Tatiana Zhivaeva, Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; e-mail: zhivaeva.vniikr@mail.ru.

Yuri Shneyder, PhD in Biology, Head of Research and Methodology and Experimental Center, Leading Researcher, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-7565-1241, e-mail: yury.shneyder@mail.ru.

Elena Karimova, PhD in Biology, Senior Researcher, Head of Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-6474-8913, e-mail: elenavkar@mail.ru.

Анализ генетических отличий некоторых патоваров *Pseudomonas syringae*

С.И. ПРИХОДЬКО¹, А.Б. ЯРЕМКО²,
Е.В. СТАРИКОВА³, К.П. КОРНЕВ⁴

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

¹ ORCID 0000-0002-1281-4410,
e-mail: svetlana.prik@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-3295-8080, e-mail: an_ya94@mail.ru

³ ORCID 0000-0001-6582-210X,
e-mail: hed.robin@gmail.com

⁴ ORCID 0000-0002-3490-1857,
e-mail: konstantin.kornev@gmail.com

АННОТАЦИЯ

Pseudomonas syringae pv. *maculicola* является фитопатогеном, поражающим крестоцветные растения во всем мире. *P. s. pv. maculicola* регулируется фитосанитарными требованиями следующих стран: Китай, Израиль, Мексика, Египет, Судан и Индонезия. Таким образом, возникла необходимость в установлении соответствия мест производства и экспортной продукции требованиям стран – торговых партнеров России методами лабораторной диагностики. В связи с высоким генетическим сходством патоваров вида *P. syringae*, при проведении лабораторной диагностики особый интерес представляет необходимость отличить патовар *maculicola* от патовара *tomato*. Данные бактерии могут одновременно присутствовать на растениях семейства Крестоцветные (Капустные) и вызывать бактериоз. Также трудности в установлении возбудителя бактериоза на крестоцветных растениях представляет бактерия *P. cannabina* pv. *alisalensis*. Этот вид имеет широкий круг растений-хозяев, включая крестоцветные. Кроме того, ареалы хозяев и симптомы проявления заболевания *P. s. pv. maculicola* и *P. c. pv. alisalensis* совпадают, что также может привести к путанице в определении возбудителя. С целью анализа генетических отличий некоторых патоваров *Pseudomonas syringae*, а также поиска специфических генетических маркеров, которые могут быть использованы при проведении лабораторной диагностики *P. s. pv. maculicola*, нами был проведен поиск предположительной мишени путем изучения белков, соответствующих 293 общедоступным геномным сборкам некоторых патоваров вида *P. syringae*, а также 43 геномным сборкам близкородственных видов *P. cannabina* и *P. savastanoi*. Анализ показал высокое сходство большинства анализируемых последовательностей с последовательностями патовара *P. c. pv. alisalensis*.

Ключевые слова. Генетический тест, геномные сборки, белок, филогенетическое древо.

Analysis of genetic differences of some *Pseudomonas syringae* pathovars

S.I. PRIKHODKO¹, A.B. YAREMKO², E.V. STARIKOVA³,
K.P. KORNEV⁴

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

¹ ORCID 0000-0002-1281-4410,
e-mail: svetlana.prik@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-3295-8080, e-mail: an_ya94@mail.ru

³ ORCID 0000-0001-6582-210X,
e-mail: hed.robin@gmail.com

⁴ ORCID 0000-0002-3490-1857,
e-mail: konstantin.kornev@gmail.com

ABSTRACT

Pseudomonas syringae pv. *maculicola* is a phytopathogen affecting cruciferous plants worldwide. *P. s. pv. maculicola* is regulated by the phytosanitary requirements of the following countries: China, Israel, Mexico, Egypt, Sudan and Indonesia. Thus, there was a need to establish the compliance of the places of production and export products with the requirements of the countries, Russia's trading partners, using laboratory diagnostics methods. Due to the high genetic similarity of *P. syringae* pathovars, when conducting laboratory diagnostics, of particular interest is the need to distinguish *maculicola* pathovar from *tomato* pathovar. These bacteria can simultaneously be present on plants of the Cruciferous (Cabbage) family and cause bacteriosis. It is also difficult to identify the causative agent of bacteriosis on cruciferous plants, the bacterium *P. cannabina* pv. *alisalensis*. This species has a wide range of host plants, including cruciferous plants. In addition, host plants areas and symptoms of *P. s. pv. maculicola* and *P. c. pv. alisalensis* coincide, which can also lead to confusion in the identification. In order to analyze the genetic differences of some *Pseudomonas syringae* pathovars, as well as the search for specific genetic markers that can be used in laboratory diagnosis of *P. s. pv. maculicola*, we searched for a potential target by studying proteins corresponding to 293 available genomic assemblies of some *P. syringae* pathovars, as well as 43 genomic assemblies of closely related species *P. cannabina* and *P. savastanoi*. The analysis showed a high similarity of most of the analyzed sequences with the sequences of *P. c. pv. alisalensis* pathovar.

Key words. Genetic test, genomic assemblies, protein, phylogenetic tree.

ВВЕДЕНИЕ



Бактерии рода *Pseudomonas* относятся к классу Gammaproteobacteria, семейству Pseudomonadaceae и были впервые описаны Migula (1894 г.). Впоследствии развитие молекулярных методов исследований привело к значительному пересмотру классификации псевдомонад. Группы псевдомонад были сформированы на основе исследований последовательностей гена 16S рРНК (Anzai et al., 2000). На сегодняшний день род *Pseudomonas* считается наиболее сложным в плане диагностики. Некоторые виды псевдомонад являются возбудителями заболеваний сельскохозяйственных и декоративных растений. Наиболее распространенный представитель фитопатогенов данного рода – вид *P. syringae* (<https://www.cabi.org>, 2021). Бактерии этого вида способны колонизировать филосферу широкого круга как культурных, так и дикорастущих растений (Morriset al., 2007). Симптомы заболеваний, вызываемых *P. syringae*, разнообразны и проявляются в форме гнилей, пятнистостей, галловых образований (Sarkar, Guttman, 2004).

Вид *P. syringae* подразделяется на патовары в зависимости от растения-хозяина. Тем не менее неоднократно были установлены случаи поражения одним бактериальным изолятом патовара разных растений-хозяев, что привело исследователей к необходимости пересмотра классификации вида. Сложность в дифференциации патоваров также состоит в их близком филогенетическом родстве (Hwang et al., 2005; Gironde, Manceau, 2012). На сегодняшний день на основе гомологии ДНК выделяют 9 геномовидов *P. syringae* (Gardan et al., 1999; Ilić et al., 2016).

Pseudomonas syringae pv. *maculicola* поражает растения семейства Капустные и является причиной спорадических эпифитотий бактериальной пятнистости в посевах различных крестоцветных культур во всем мире, в том числе и на территории России. Необходимость в диагностике *P. s.* pv. *maculicola* возникла в связи увеличением объемов экспорта масличного рапса. Места производства экспортной продукции должны быть свободны от вредных организмов, регулируемых страной-импортером. Для установления соответствия таким требованиям проводятся мониторинги распространения вредных организмов, а также исследования продукции, предназначенной на экспорт. *P. s.* pv. *maculicola* регулируется фитосанитарными требованиями следующих стран: Китай, Мексика, Египет, Израиль, Судан и Индонезия (Приходько и др., 2021). При проведении диагностики в лаборатории особый интерес представляет необходимость отличить патовар *P. s.* pv. *maculicola* от *tomato*, поскольку эти бактерии могут одновременно присутствовать на растениях и вызывать бактериоз (Cuppels, Ainsworth, 1995; Gironde, Manceau, 2012). Также близкий вид *P. cannabina* pv. *alisalensis* имеет широкий круг растений-хозяев, включая крестоцветные. Ареалы хозяев *P. s.* pv. *maculicola* и *P. cannabina* pv. *alisalensis* совпадают. *P. cannabina* pv. *alisalensis* вызывает бактериальную пятнистость и ожог растений семейств Brassicaceae и Poaceae. Сходный круг поражаемых растений и симптоматика проявления заболевания

INTRODUCTION

Bacteria of the genus *Pseudomonas* belong to the class Gammaproteobacteria, family Pseudomonadaceae and were first described by Migula (1894). Subsequently, the development of molecular research methods led to a significant revision of the classification of pseudomonads. Pseudomonas groups were formed on the basis of studies of the 16S rRNA gene sequences (Anzai et al., 2000). Today, the genus *Pseudomonas* is considered the most difficult to diagnose. Some species of pseudomonas are causative agents of diseases of agricultural and ornamental plants. The most common representative of phytopathogens of this genus is the species *P. syringae* (<https://www.cabi.org>, 2021). Bacteria of this species are able to colonize the phyllosphere of a wide range of both cultivated and wild plants (Morriset al., 2007). Symptoms of diseases caused by *P. syringae* are varied and manifest in the form of rot, spots, gall formations (Sarkar, Guttman, 2004).

P. syringae is subdivided into pathovars depending on a host plant. Nevertheless, cases of damage by one bacterial isolate of pathovar to different host plants have been repeatedly established, which led researchers to the need to revise the classification of the species. The difficulty in differentiating pathovars also lies in their close phylogenetic relationship (Hwang et al., 2005; Gironde, Manceau, 2012). To date, based on DNA homology, 9 genomospecies of *P. syringae* have been isolated (Gardan et al., 1999; Ilić et al., 2016).

Pseudomonas syringae pv. *maculicola* infects plants of the Cabbage family and is the cause of sporadic epiphytotic of bacterial spotting in crops of various cruciferous crops throughout the world, including in Russia. The need for diagnosis of *P. s.* pv. *maculicola* arose due to the increase in exports of oilseed rape. Places of production of export products must be free from pests regulated by the importing country. To establish compliance with such requirements, monitoring of the pests spread is carried out, as well as studies of products intended for export. *P. s.* pv. *maculicola* is regulated by the phytosanitary requirements of the following countries: China, Mexico, Egypt, Israel, Sudan and Indonesia (Prihodko et al., 2021). When conducting diagnosis in the laboratory, it is necessary to distinguish the pathovar *P. s.* pv. *maculicola* from *tomato*, since these bacteria can simultaneously be present on plants and cause bacteriosis (Cuppels, Ainsworth, 1995; Gironde, Manceau, 2012). Also, the closely related species *P. cannabina* pv. *alisalensis* has a wide range of host plants, including cruciferous. Host plants areas of *P. s.* pv. *maculicola* and *P. cannabina* pv. *alisalensis* coincide. *P. cannabina* pv. *alisalensis* causes bacterial blotch and blight on plants of the families Brassicaceae and Poaceae. A similar range of affected plants and symptoms of the manifestation of the disease often lead to confusion in identifying the pathogen only by classical microbiological and biochemical methods (Sakata et al., 2021). The aim of our research was to analyze the genetic differences of some *Pseudomonas syringae* pathovars.

часто приводят к путанице в определении возбудителя только классическими микробиологическими и биохимическими методами (Sakata et al., 2021). Целью наших исследований являлся анализ генетических отличий некоторых патоваров *Pseudomonas syringae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подбор геномных сборок бактерий рода *Pseudomonas*. Анализ генетических отличий некоторых патоваров *Pseudomonas syringae* осуществляли путем исследования аннотированных белков, соответствующих 293 общедоступным геномным сборкам из базы NCBI Reference Sequence Database (NCBI RefSeq), а также 43 геномным сборкам близкородственных видов *P. cannabina* и *P. savastanoi* (табл. 1).

Кластеризация белковых последовательностей патоваров. Белковые последовательности, соответствующие геномным сборкам, помечали в соответствии с видом и патоваром, затем производили кластеризацию последовательностей при помощи биоинформатического инструмента CD-HIT (v. 4.1). Данный инструмент производит группировку последовательностей в кластеры по заданному порогу сходства на основе соответствия распределений коротких подпоследовательностей-пептидов («слов»).

Использовались следующие пороги сходства для каждой из последовательностей, попадающей в кластер: не менее 70% идентичности другим последовательностям кластера и не менее 70% от длины наиболее длинной последовательности кластера. Это условный порог, позволяющий не отбрасывать последовательности, слегка различающиеся между собой по длине, что является допустимым, и в то же время избежать попадания в кластер коротких последовательностей с частичным сходством с анализируемыми – такие последовательности затрудняют анализ. Такой порог длины позволяет анализировать примерно «равные» последовательности и минимизировать количество «шума».

Длина используемого «слова» составила 5 аминокислотных остатков. Такая длина является желательной длиной при данном пороге сходства согласно рекомендациям авторов алгоритма CD-HIT. Такая идентичность является минимальным порогом сходства, на котором работает «белковая» версия алгоритма CD-HIT. Такой порог позволил проанализировать максимальное количество кластеров. Повышение порога приводит к потере данных, а снижение его невозможно.

Выравнивание белковых и нуклеотидных последовательностей избранных кластеров и построение деревьев. Для каждого из 12 избранных белковых кластеров было проведено множественное выравнивание последовательностей с использованием инструмента MUSCLE (v. 3.8.31) (https://drive5.com/muscle/downloads_v3.htm). На основе полученных выравниваний были построены филогенетические деревья с использованием методов максимального правдоподобия с помощью пакета PhyML (v. 3.0) (Guindon et al., 2010). В качестве модели замен использовалась модель JTT. Данная модель была выбрана автоматически инструментом PhyML как наиболее подходящая для данного

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Selection of genomic assemblies of bacteria of the genus *Pseudomonas*. The analysis of genetic differences of some *Pseudomonas syringae* pathovars was performed by examining annotated proteins corresponding to 293 available genomic assemblies from the NCBI Reference Sequence Database (NCBI RefSeq), as well as 43 genomic assemblies of the closely related species *P. cannabina* and *P. savastanoi* (Table 1).

Таблица 1

Использованные штаммы и изоляты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)

Table 1
Used strains and isolates of *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*
(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>)

№ п/п	Геномная сборка <i>P. s. pv. maculicola</i> Genomic assembly <i>P. s. pv. maculicola</i>	Штамм/ изолят Strain/ Isolate	Происхождение/ растение Origin/Plant
1	GCF_000145845.2	ES4326	США USA/ <i>Raphanus sativus</i> L.
2	GCF_000935725.1	CFBP 1657	Новая Зеландия New Zealand/ <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.
3	GCF_001293575.1	YM7930	Япония Japan/ <i>Raphanus sativus</i> L.
4	GCF_001293855.1	90_32	США USA/ <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.
5	GCF_001293925.1	H7608	Япония Japan/ <i>Brassica rapa</i> subsp. <i>pekinensis</i> (Lour.) Hanelt
6	GCF_001294165.1	M6	Великобритания UK/ <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.
7	GCF_001294185.1	KN91	–/ <i>Raphanus sativus</i> L.
8	GCF_001294305.1	M4a	США USA/ <i>Raphanus sativus</i> L.
9	GCF_001400855.1	ICMP 3935	Новая Зеландия New Zealand/ <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.
10	GCF_003699635.1	4981	Зимбабве Zimbabwe/ <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> L.
11	GCF_003700765.1	ICMP 2744	Великобритания UK/ <i>Brassica nigra</i> (L.) W.D.J. Koch
12	GCF_003702755.1	ICMP 11281	Китай China/ <i>Brassica rapa</i> L.

набора последовательностей. Модель использовалась для построения всех деревьев.

Визуализация полученных деревьев проводилась с использованием инструмента TreeDyn (v. 198.3) (http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/one_task.cgi?task_type=treedyn).

Выравнивание репрезентативных белковых последовательностей каждого из отобранных в ходе анализа 8 кластеров проводили при помощи алгоритма BLASTP (NCBI).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводилось при помощи инструмента Muscle (v. 3.8). Визуализация результатов выравнивания производилась в MView (v. 1.20.1) (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mview/>).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате кластеризации 1 760 372 белковых последовательностей с помощью инструмента CD-HIT было получено 38 498 кластеров, содержащих от 1 до 920 аминокислотных последовательностей различной длины. Полученные кластеры анализировали с помощью скрипта на языке Python, позволяющего находить кластеры с заданными параметрами в большом массиве текстовых данных.

Анализ полученных кластеров показал отсутствие белковых последовательностей, специфичных только для патовара *P. s. pv. maculicola*. Часто белковые последовательности патовара *P. syringae* *pv. maculicola* кластеризовались вместе с патоваром *P. s. pv. tomato*. Ввиду близости данных патоваров, а также сложности их дифференцирования, что могло привести к ошибочному аннотированию патоваров в NCBI RefSeq, мы производили поиск кластеров, содержащих максимальное количество белков патоваров *P. s. pv. maculicola* и *P. s. pv. tomato* и минимальное количество белков других патоваров. В результате такого анализа нам удалось обнаружить 2 кластера, содержащие белковые последовательности только *P. s. pv. maculicola* и *P. s. pv. tomato* и не содержащие белковых последовательностей других патоваров. В кластерах, содержащих последовательности *P. s. pv. maculicola* и *P. s. pv. tomato*, также часто встречались последовательности патоваров *P. s. pv. lachrymans* и *P. cannabina* *pv. alisalisensis*. Данные анализа избранных белковых кластеров приведены в таблице 2.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, избранные белковые кластеры разделились на II типа. Кластеры I типа присутствовали в 10 из 12 проанализированных штаммов *P. s. pv. maculicola*, в 5 из 20 проанализированных штаммов *P. s. pv. tomato*, во всех 4 проанализированных штаммах *P. s. pv. alisalisensis* и в 2 из 11 проанализированных штаммов *P. s. pv. lachrymans*. Кластеры II типа присутствовали в 7 из 12 проанализированных штаммов *P. s. pv. maculicola*, в 9 из 20 проанализированных штаммов *P. s. pv. tomato* и отсутствовали в проанализированных штаммах *P. s. pv. alisalisensis* и *P. s. pv. lachrymans*. Подобные результаты ставят под вопрос корректность аннотаций использованных геномных сборок, депонированных в NCBI RefSeq.

В качестве примера ниже представлены 4 из 12 филогенетических деревьев, построенных для кластеров обоих типов (рис. 1).

По результатам анализа филогенетических деревьев нами были исключены кластеры,

Clustering of pathovars protein sequences. Protein sequences corresponding to genomic assemblies were labeled according to species and pathovar, then the sequences were clustered using the bioinformatics tool CD-HIT (v. 4.1). This tool groups sequences into clusters according to a given threshold of similarity based on the correspondence of distributions of short peptide subsequences ("words").

The following similarity thresholds were used for each of the sequences in the cluster: at least 70% identity to other cluster sequences and at least 70% of the length of the longest cluster sequence. This is a conditional threshold that makes it possible not to discard sequences that slightly differ in length from each other, which is acceptable, and at the same time to avoid getting into the cluster of short sequences with partial similarity to the analyzed ones – such sequences make analysis difficult. Such a length threshold allows us to analyze approximately "equal" sequences and minimize the amount of "noise".

The length of the used "word" was 5 amino acid residues. This length is the desired length for a given similarity threshold, as recommended by the authors of the CD-HIT algorithm. This identity is the minimum similarity threshold on which the "protein" version of the CD-HIT algorithm works. This threshold made it possible to analyze the maximum number of clusters. Raising the threshold results in data loss, but lowering it is not possible.

Alignment of protein and nucleotide sequences of selected clusters and construction of trees. For each of the 12 selected protein clusters, multiple sequence alignments were performed using the MUSCLE tool (v. 3.8.31) (https://drive5.com/muscle/downloads_v3.htm). Based on the resulting alignments, phylogenetic trees were constructed using maximum likelihood methods using the PhyML (v. 3.0) package (Guindon et al., 2010). The JTT model was used as a substitution model. This model was automatically selected by the PhyML tool as the most suitable for this set of sequences. The model was used to build all trees.

The resulting trees were visualized using the TreeDyn tool (v. 198.3) (http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/one_task.cgi?task_type=treedyn).

Alignment of representative protein sequences of each of the 8 clusters selected during the analysis was performed using the BLASTP algorithm (NCBI).

Alignment of nucleotide sequences was carried out using the Muscle tool (v. 3.8). Alignment results were visualized in MView (v. 1.20.1) (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mview/>).

RESULTS AND DISCUSSION

As a result of clustering 1,760,372 protein sequences using the CD-HIT tool, 38,498 clusters were obtained containing from 1 to 920 amino acid sequences of various lengths. The resulting clusters were analyzed using a Python script that allows finding clusters with given parameters in a large array of text data.

Analysis of the resulting clusters showed the absence of protein sequences specific only for the pathovar *P. s. pv. maculicola*. Often the protein sequences of

Таблица 2
Избранные кластеры с последовательностями патовара
P. syringae* pv. *maculicola

Table 2
Selected clusters with *P. syringae* pv. *maculicola* pathovar sequences

Кластер Cluster	Аннотация Annotation	Длина Length	N. mac	N. tom	N. ali	N. lach
1415	TonB-dependent receptor	785	10/12	5/20	4/4	2/11
9438	DJ-1/Pfpl family protein	333	10/12	5/20	4/4	2/11
11492	MBL fold metallo-hydrolase	296	10/12	5/20	4/4	2/11
12691	DJ-1/Pfpl family protein	276	10/12	5/20	4/4	2/11
17663	putative natural product biosynthesis protein	208	10/12	5/20	4/4	2/11
18924	putative natural product biosynthesis protein	193	10/12	5/20	4/4	2/11
19719	OsmC family protein	184	7/12	9/20	0/4	0/11
21897	copper chaperone PCu(A)C	162	10/12	5/20	4/4	2/11
22842	DUF2946 domain-containing protein	154	10/12	5/20	4/4	2/11
26276	DUF2946 domain-containing protein	127	10/12	5/20	4/4	2/11
28504	carboxymuconolactone decarboxylase family protein	110	7/12	9/20	0/4	2/11
30723	cytochrome c5 family protein	95	10/12	5/20	0/4	2/11

«Кластер» – номер кластера. «Аннотация» – аннотация репрезентативной последовательности в NCBI RefSeq. «Длина» – максимальная длина последовательности в кластере в аминокислотных остатках. «N. mac (tom/ali/lach)» – количество штаммов патовара *maculicola* (*tomato/alisalensis/lachrymans*), в которых присутствует данная белок-кодирующая последовательность, от общего количества проанализированных штаммов данного патовара.

“Cluster” – cluster number. “Annotation” is an annotation of a representative sequence in NCBI RefSeq. “Length” – the maximum length of the sequence in the cluster in amino acid residues. “N. mac (tom/ali/lach)” – number of pathovar *maculicola* (*tomato/alisalensis/lachrymans*) strains, containing this protein-coding sequence, from the total number of analyzed strains of this pathovar.

не позволяющие отличать последовательности патоваров *maculicola* и *tomato* от патовара *alisalensis*. Возможные пересечения маркерных последовательностей с последовательностями данного патовара нежелательны ввиду схожести спектра поражаемых культур и симптомов поражения. Таким образом, было отобрано 6 кластеров: 9438, 12691, 11492, 19719, 28504 и 30723.

При анализе результатов выравнивания последовательностей этих кластеров было установлено высокое сходство большинства анализируемых последовательностей с последовательностями патовара *P. s. pv. alisalensis*, а также возник вопрос о корректности аннотации патоваров использованных геномных сборок, депонированных в NCBI RefSeq.

С целью поиска стратегии решения данных проблем нами была проведена перепроверка использовавшихся в анализе геномных сборок *P. s. pv. maculicola* и *P. s. pv. tomato*. В результате из анализа были исключены 3 сборки *P. s. pv. maculicola*, имеющие статус “Taxonomy check: Inconclusive”. Такой статус означает, что средняя нуклеотидная идентичность (Average Nucleotide Identity, ANI) для

the pathovar *P. syringae* pv. *maculicola* were clustered together with the pathovar *P. s. pv. tomato*. Due to the proximity of these pathovars, as well as the complexity of their differentiation, which could lead to erroneous annotation of pathovars in NCBI RefSeq, we searched for clusters containing the maximum number of proteins of the pathovars *P. s. pv. maculicola* and *P. s. pv. tomato*, and the minimum number of proteins of other pathovars. As a result of this analysis, we were able to detect 2 clusters containing protein sequences only of *P. s. pv. maculicola* and *P. s. pv. tomato* and not containing protein sequences of other pathovars. In clusters containing sequences of *P. s. pv. maculicola* and *P. s. pv. tomato*, there were often sequences of the pathovars *P. s. pv. lachrymans* and *P. cannabina* pv. *alisalensis*. Analysis data for selected protein clusters are shown in Table 2.

As can be seen from the data presented in Table 2, the selected protein clusters were divided into two types. Type I clusters were present in 10 of the 12 analyzed strains of *P. s. pv. maculicola*, in 5 of the 20 analyzed strains of *P. s. pv. tomato*, in all 4 analyzed strains of *P. c. pv. alisalensis* and in 2 of the 11 analyzed strains of *P. s. pv. lachrymans*. Type II clusters were present in 7 of the 12 analyzed strains of *P. s. pv. maculicola*, in 9 of the 20 analyzed strains of *P. s. pv. tomato* and absent in the analyzed strains of *P. c. pv. alisalensis* and *P. s. pv. lachrymans*. Such results call into question the correct-

ness of the annotations of the used genomic assemblies deposited in NCBI RefSeq.

As an example, 4 out of 12 phylogenetic trees constructed for clusters of both types are presented below (Fig. 1).

Based on the results of the analysis of phylogenetic trees, we excluded clusters that did not allow us to distinguish the sequences of the pathovars *maculicola* and *tomato* from the pathovar *alisalensis*. Possible intersections of marker sequences with sequences of this pathovar are undesirable due to the similarity of the spectrum of affected crops and the symptoms of the disease. Thus, 6 clusters were selected: 9438, 12691, 11492, 19719, 28504 и 30723.

When analyzing the results of alignment of the sequences of these clusters, a high similarity of most of the analyzed sequences with the sequences of the pathovar *P. c. pv. alisalensis* was found, and also there was a question about the correctness of the annotation of

данной сборки не соответствует ожидаемой. Таким образом, из анализа были исключены геномные сборки GCF_001293575.1, GCF_001294185.1 и GCF_000145845.2 (табл. 1). Белки именно этих геномных сборок проявляли наибольшее сходство с последовательностями *P. c. pv. alisalensis*.

Нами были перестроены филогенетические деревья для 12 ранее отобранных кластеров с обновленными последовательностями. На рисунке 2 представлены 4 из 12 филогенетических деревьев с обновленными последовательностями.

Сравнивая приведенные на рисунках 1 и 2 деревья, можно сделать вывод, что фильтрация геномных сборок с неподтвержденной аннотацией позволила исключить последовательности *P. c. pv. alisalensis* из клад, в которых находятся последовательности *P. s. pv. maculicola* и *P. s. pv. tomato*, лишь для части кластеров. Таким образом, из анализа были исключены последовательности кластеров 22842, 21897, 18924, 17663.

Для оставшихся кластеров наблюдалась вариативность последовательностей *P. s. pv. maculicola*. Несмотря на то, что нами была проведена

pathovars of the used genomic assemblies deposited in NCBI RefSeq.

In order to find a strategy for solving these problems, we rechecked the genomic assemblies of *P. s. pv. maculicola* and *P. s. pv. tomato* used in the analysis. As a result, 3 assemblies of *P. s. pv. maculicola* were excluded from the analysis with the status "Taxonomy check: Inconclusive". This status means that the average nucleotide identity (ANI) for this assembly does not match the expected. Thus, genomic assemblies GCF_001293575.1, GCF_001294185.1 and GCF_000145845.2 were excluded from the analysis (Table 1). The proteins of these genomic assemblies showed the greatest similarity to the sequences of *P. c. pv. alisalensis*.

We rebuilt phylogenetic trees for 12 previously selected clusters with updated sequences. Figure 2 shows 4 out of 12 phylogenetic trees with updated sequences.

Comparing the trees shown in Figures 1 and 2, we can conclude that the filtering of genomic assemblies with an unconfirmed annotation made it possible to exclude sequences of *P. c. pv. alisalensis* from the clades containing the sequences of *P. s. pv. maculicola* and *P. s. pv. tomato*, only for some clusters. Thus, sequences

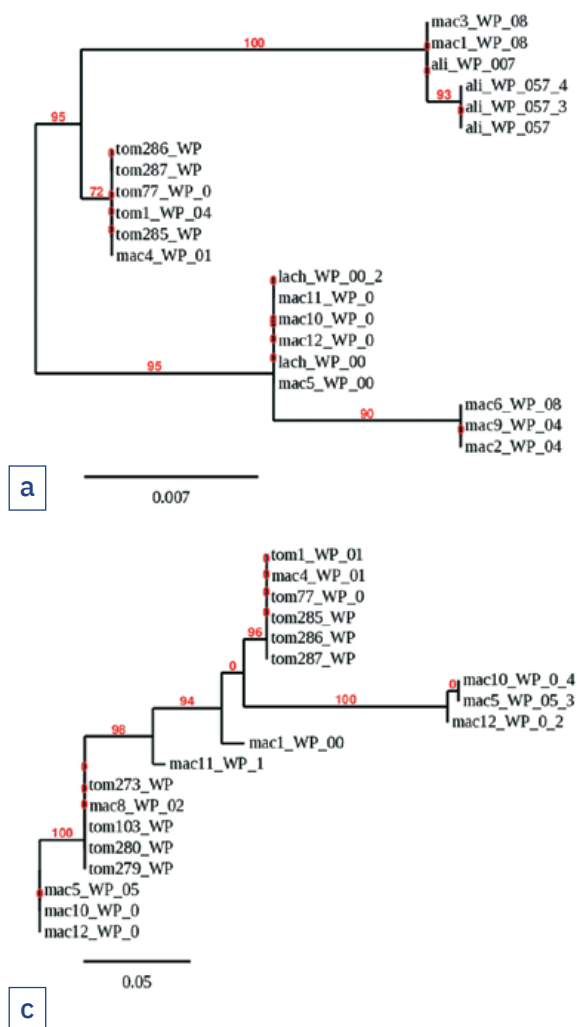


Рис. 1. Филогенетические деревья белковых последовательностей для кластеров 1415 (a), 18924 (b), 19719 (c), 28504 (d)

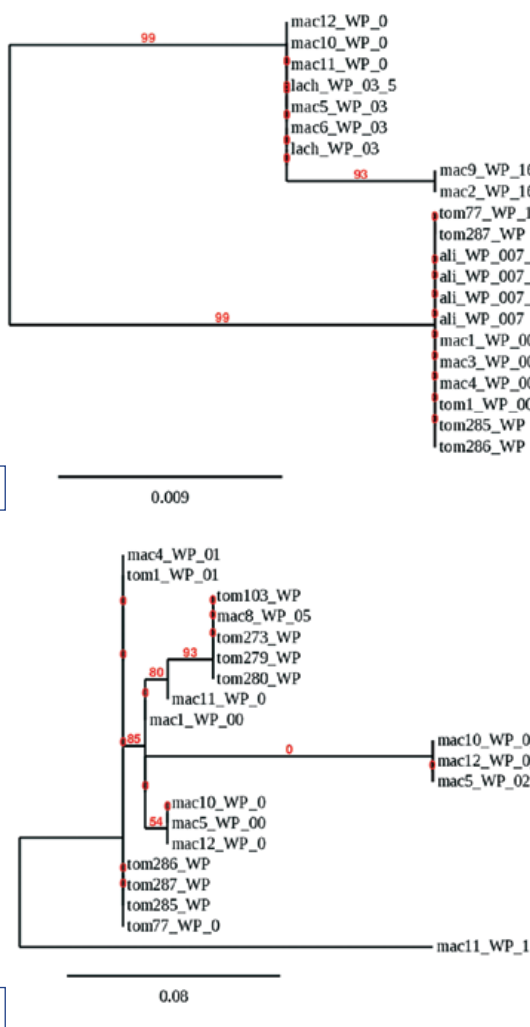


Fig. 1. Phylogenetic trees of protein sequences for clusters 1415 (a), 18924 (b), 19719 (c), 28504 (d)

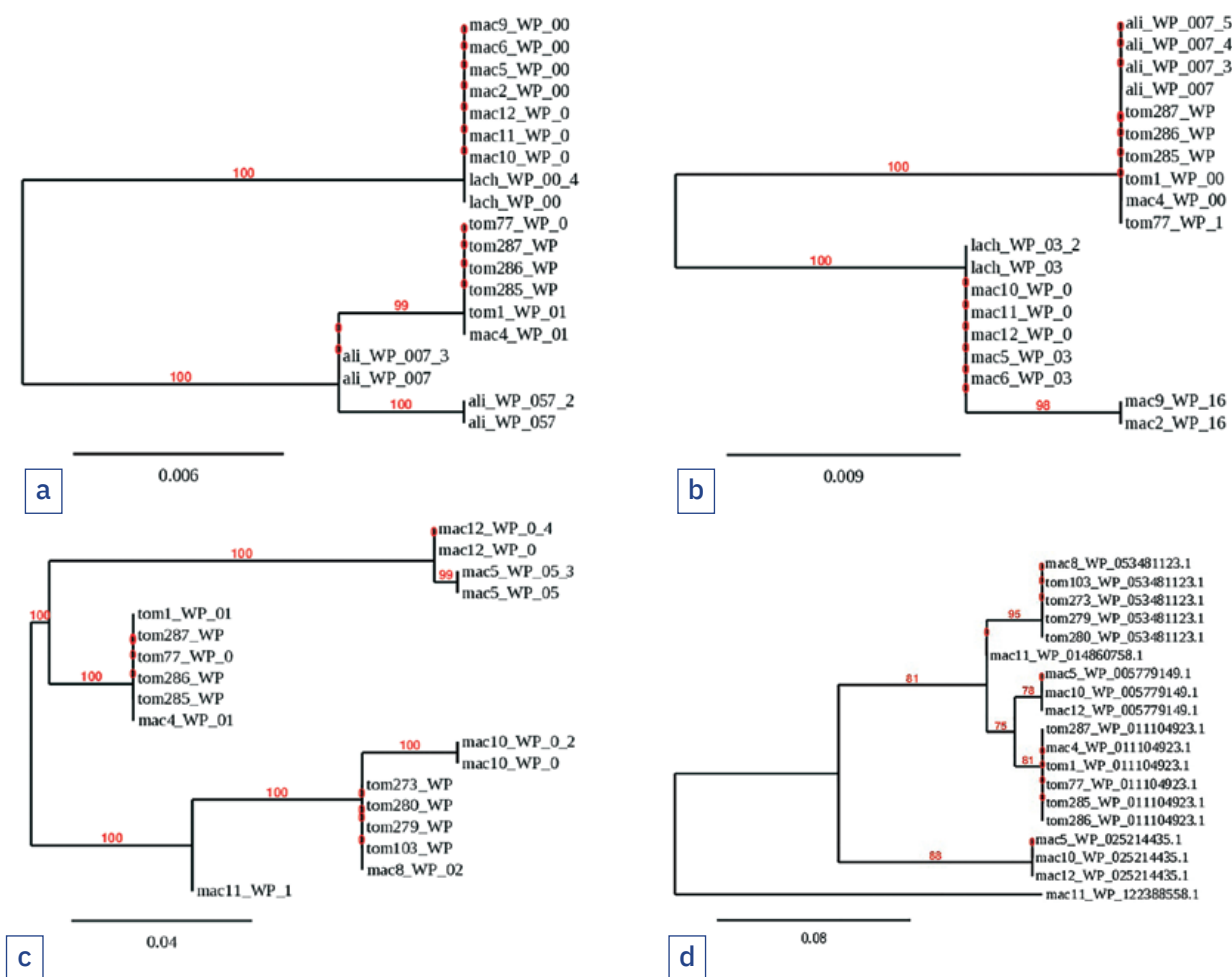


Рис. 2. Филогенетические деревья белковых последовательностей для отобранных кластеров 1415 (а), 18924 (б), 19719 (с), 28504 (д) с учетом обновленного набора последовательностей

Fig. 2. Phylogenetic trees of protein sequences for selected clusters 1415 (a), 18924 (b), 19719 (c), 28504 (d) taking into account the updated set of sequences

фильтрация использовавшихся геномных сборок, последовательности данного патовара выделялись в различные клады, что поставило под вопрос возможность создания универсальной тест-системы, обладающей чувствительностью ко всем штаммам патовара. По-видимому, для данного патовара характерна высокая вариабельность последовательностей.

Результаты выравнивания восьми отобранных кластеров приведены в таблице 3. Данные выравнивания были проведены для установления их сходства с последовательностями других фитопатогенных видов, не использовавшихся на предыдущем этапе работы. При этом не оценивалась точность аннотации геномных сборок других видов рода *Pseudomonas*. Из всех видов, сходство с последовательностями которых обнаруживалось по результатам выравнивания анализируемых последовательностей, приведены только значимые фитопатогенные и широко распространенные виды.

Для дальнейшего анализа мы выбрали только те кластеры, в которых белковая идентичность последовательностям *Pseudomonas fluorescens*, *P. viridiflava* и *P. cannabina* pv. *alisalensis* не превышает 95%. Таким условиям соответствовали 2 кластера: 11492 и 9438 (выделены зеленым). Для каждой из белковых последовательностей, входящих в кластеры, были загружены соответствующие

of clusters 22842, 21897, 18924, 17663 were excluded from the analysis.

For the remaining clusters, variability was observed for the sequences of *P. s. pv. maculicola*. Despite the fact that we filtered the used genomic assemblies, the sequences of this pathovar were allocated to different clades, which questioned the possibility of creating a universal test system that is sensitive to all pathovar strains. Apparently, this pathovar is characterized by high sequence variability.

The results of the alignment of 8 selected clusters are shown in Table 3. These alignments were carried out to establish their similarity with the sequences of other phytopathogenic species that were not used at the previous stage of work. At the same time, the accuracy of the annotation of genomic assemblies of other species of the genus *Pseudomonas* was not evaluated. Of all the species, the similarity with the sequences of which was found by the results of the alignment of the analyzed sequences, only significant phytopathogenic and widespread species are shown.

For further analysis, we selected only those clusters in which the protein identity for the sequences of *Pseudomonas fluorescens*, *P. viridiflava* and *P. cannabina*

Таблица 3
Результаты белкового выравнивания анализируемых кластеров с последовательностями других фитопатогенных псевдомонад

Table 3
Results of protein alignment of the analyzed clusters with sequences of other phytopathogenic pseudomonads

Кластер Cluster	Идентификатор белка Protein ID	Максимальная идентич- ность с <i>P. fluorescens</i> Maximum identity with <i>P. fluorescens</i>	Максимальная идентич- ность с <i>P. viridiflava</i> Maximum identity with <i>P. viridiflava</i>	Максимальная идентичность с <i>P. cannabina</i> (в т. ч. <i>pv. alisalensis</i>) Maximum identity with <i>P. cannabina</i> (including <i>pv. alisalensis</i>)
11492	WP_044392274.1	94,59%	94,93%	–
12691	WP_005771418.1	91,67%	91,30%	97,46%
1415	WP_080898718.1	88,46%	97,77%	96,56%
19719	WP_029290780.1	99,46%	97,28%	–
26276	WP_080898717.1	79,53%	89,76%	98,43%
28504	WP_053481123.1	100%	–	–
30723	WP_005764646.1	56,84%	95,89%	96,84%
9438	WP_005770349.1	77,99%	92,55%	92,55%

последовательности кодирующих их генов. Для каждого из белков была оставлена только 1 соответствующая ему репрезентативная нуклеотидная последовательность.

В ходе дальнейшего анализа корректности аннотации геномных сборок не были обнаружены последовательности генов, соответствующих белкам *P. fluorescens* и *P. viridiflava*, что может быть объяснено примененным нами фильтром корректности. Таким образом, нуклеотидные последовательности генов *P. fluorescens* и *P. viridiflava* в анализ включены не были.

На рисунках 3 и 4 представлены результаты выравнивания нуклеотидных последовательностей, соответствующих кластерам 11492 и 9438.

На рисунке 3 видно, что в различных штаммах патовара *P. s. pv. maculicola* полиморфизмы

pv. alisalensis does not exceed 95%. Two clusters corresponded to these conditions: 11492 and 9438 (highlighted in green). For each of the protein sequences included in the clusters, the corresponding sequences of the genes encoding them were loaded. For each of the proteins, only 1 corresponding representative nucleotide sequence was left.

In the course of further analysis of the correctness of the annotation of genomic assemblies, no sequences of genes corresponding to proteins *P. fluorescens* and *P. viridiflava* were found, which can be explained by the correctness filter applied by us. Thus, the nucleotide sequences of the genes of *P. fluorescens* and *P. viridiflava* were not included in the analysis.

Figures 3 and 4 show the results of the alignment of the nucleotide sequences corresponding to clusters 11492 and 9438.

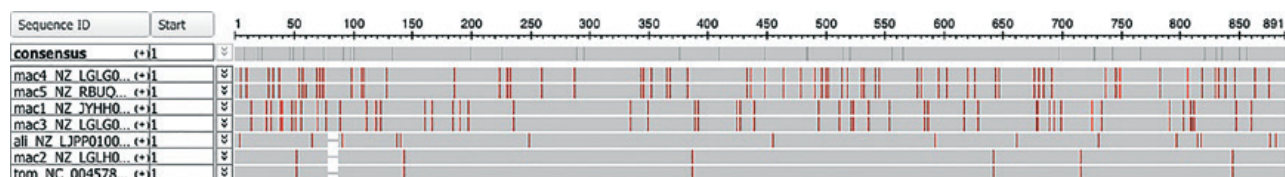


Рис. 3. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, соответствующих белкам из кластера 11492. Красным обозначены полиморфные участки, белым – «гэпы».

Fig. 3. Alignment of nucleotide sequences corresponding to proteins from cluster 11492. Polymorphic areas are marked in red; "gaps" are marked in white.

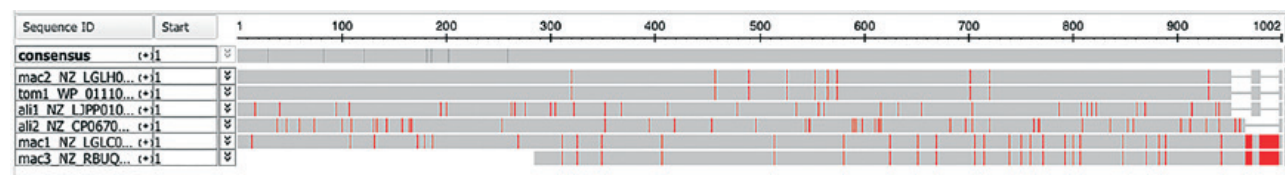


Рис. 4. Выравнивание нуклеотидных последовательностей, соответствующих белкам из кластера 9438. Красным обозначены полиморфные участки, белым – «гэпы».

Fig. 4. Alignment of nucleotide sequences corresponding to proteins from cluster 9438. Polymorphic areas are marked in red; "gaps" are marked in white.

генов кластера 11492, хоть и отличаются от соответствующей последовательности *P. c. pv. alisalensis*, вариабельны и не имеют консенсуса. Характер распределения полиморфизмов разделяет последовательности патовара на 3 различных типа, отличающихся как от *P. c. pv. alisalensis*, так и друг от друга. Это не позволяет подобрать участок для разработки универсальных праймеров на патовар с использованием данных последовательностей.

Аналогичное распределение было получено для последовательностей кластера 9438 (рис. 4): последовательности вариабельны внутри патовара и разделяются на 2 типа, что не позволяет подобрать на данные последовательности праймеры для всех изученных сегодня групп штаммов *P. s. pv. maculicola*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ генетических отличий некоторых патоваров *Pseudomonas syringae*, проведенный путем исследования аннотированных белков, соответствующих 293 общедоступным геномным сборкам некоторых патоваров вида *P. syringae* (включая 12 штаммов патовара *P. s. pv. maculicola*), а также 43 геномным сборкам близкородственных видов *P. cannabina* и *P. savastanoi*, показал высокое сходство большинства анализируемых последовательностей с последовательностями патовара *P. c. pv. alisalensis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Приходько С., Яремко А., Корнев К., 2021. Испытание различных методов идентификации возбудителя бактериальной пятнистости листьев цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. – Таврический вестник аграрной науки, 1 (25): 174–186. URL: <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-1-25-174-186>.
2. Anzai Y., Kim H., Park J., Wakabayashi H., Oyaizu H., 2000. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. – International journal of systematic and evolutionary microbiology, 50 (4): 1563–1589. URL: <https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1563>.
3. Cuppels D., Ainsworth T., 1995. Molecular and Physiological Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* Strains That Produce the Phytotoxin Coronatine. – Applied and Environmental Microbiology, 61 (10): 3530–3536. URL: <https://doi.org/10.1128/aem.61.10.3530-3536.1995>.
4. Gardan L., Shafik H., Belouin S., Broch R., Grimont F., Grimont P.A.D., 1999. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremiae* sp. nov. and *Pseudomonas cannabina* sp. nov. (ex Sutic and Dowson 1959). – Int. J. System. Bact., № 49: 469–478. URL: <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-469>.
5. Gironde S., Manceau C., 2012. Housekeeping Gene Sequencing and Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis to Identify Subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* That Correlate with Host Specificity. – Applied and Environmental Microbiology, 78 (9): 3266–3279. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.06655-11>.
6. Guindon S., Dufayard J.-F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O., 2010. New Algorithms

Figure 3 shows that in various strains of the pathovar *P. s. pv. maculicola*, the polymorphisms of genes of cluster 11492, although they differ from the corresponding sequence of *P. c. pv. alisalensis*, are variable and have no consensus. The pattern of distribution of polymorphisms separates pathovar sequences into 3 different types, different both from *P. c. pv. alisalensis* and each other. This makes it impossible to select a site for the development of universal primers for the pathovar using these sequences.

A similar distribution was obtained for sequences of cluster 9438 (Fig. 4): sequences are variable within pathovar and are divided into 2 types, which does not allow selecting primers for these sequences for all strain groups of *P. s. pv. maculicola* studied today.

CONCLUSION

Analysis of genetic differences of some *Pseudomonas syringae* pathovars conducted by examining annotated proteins corresponding to 293 available genomic assemblies of some *P. syringae* pathovars (including 12 strains of the pathovar *P. s. pv. maculicola*), as well as 43 genomic assemblies of closely related species *P. cannabina* and *P. savastanoi*, showed a high similarity of most of the analyzed sequences with the sequences of the pathovar *P. c. pv. alisalensis*.

REFERENCES

1. Prikhodko S.I., Iaremko A.B., Kornev K.P. Testing of different methods for identification of bacterial leaf spot (*Syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.) plant pathogen in cauliflower leaves. *Taurida Bulletin of Agrarian Science*, 2021; 1 (25): 174–186. URL: <https://doi.org/10.33952/2542-0720-2021-1-25-174-186> (in Russian).
2. Anzai Y., Kim H., Park J., Wakabayashi H., Oyaizu H. Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 2000; 50 (4): 1563–1589. URL: <https://doi.org/10.1099/00207713-50-4-1563>.
3. Cuppels D., Ainsworth T. Molecular and Physiological Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* Strains That Produce the Phytotoxin Coronatine. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995; 61 (10): 3530–3536. URL: <https://doi.org/10.1128/aem.61.10.3530-3536.1995>.
4. Gardan L., Shafik H., Belouin S., Broch R., Grimont F., Grimont P.A.D. DNA relatedness among the pathovars of *Pseudomonas syringae* and description of *Pseudomonas tremiae* sp. nov. and *Pseudomonas cannabina* sp. nov. (ex Sutic and Dowson 1959). *Int. J. System. Bact.*, 1999; No. 49: 469–478. URL: <https://doi.org/10.1099/00207713-49-2-469>.
5. Gironde S., Manceau C. Housekeeping Gene Sequencing and Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis to Identify Subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* That Correlate with Host Specificity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012; 78 (9): 3266–3279. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.06655-11>.

and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. – *Systematic Biology*, 59 (3): 307–321.

7. Hwang M., Morgan R., Sarkar S., Wang P., Guttman D., 2005. Phylogenetic characterization of virulence and resistance phenotypes of *Pseudomonas syringae*. – *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (9): 5182–5191. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5182-5191.2005>.

8. Ilić R., Balaž J., Stojšin V., Bagi F., Pivić R., Stanojković-Sebić A., Jošić D., 2016. Molecular characterization of *Pseudomonas syringae* pvs. from different host plants by repetitive sequence-based PCR and multiplex-PCR. – *Zemdirbyste-Agriculture*, 103 (2): 199–206. URL: <https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.026>.

9. Morris C., Kinkel L., Xiao K., Prior P., Sands D., 2007. Surprising niche for the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. – *Infection, Genetics and Evolution*, № 7: 84–92.

10. Sakata N., Ishiga T., Ishiga Y., 2021. *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* TrpA Is Required for Virulence in Multiple Host Plants. – *Frontiers in microbiology*, № 12: 1–11. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.659734>.

11. Sarkar S., Guttman D., 2004. Evolution of the core genome of *Pseudomonas syringae*, a highly clonal, endemic plant pathogen. – *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (4): 1999–2012. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.02553-07>.

12. CABI Crop Protection Compendium, 2021. – URL: <https://www.cabi.org>.

13. MUSCLE (v. 3.8.31). – URL: https://drive5.com/muscle/downloads_v3.htm.

14. A multiple alignment viewer (MView). – URL: <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mview/>.

15. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database, 2021. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>.

16. TreeDyn (v. 198.3). – URL: http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/one_task.cgi?task_type=treedyn.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Приходько Светлана Игоревна, научный сотрудник, заведующая лабораторией бактериологии и анализа ГМО Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-1281-4410, e-mail: svetlana.prik@yandex.ru.

Яремко Анастасия Богдановна, младший научный сотрудник научного отдела молекулярно-генетических методов диагностики ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-3295-8080, e-mail: an_ya94@mail.ru.

Старикова Елизавета Валентиновна, агроном лаборатории вирусологии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0001-6582-210X, e-mail: hed.robin@gmail.com.

Корнев Константин Павлович, кандидат биологических наук, заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. Раменское, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0002-3490-1857, e-mail: konstantin.kornev@gmail.com.

6. Guindon S., Dufayard J.-F., Lefort V., Anisimova M., Hordijk W., Gascuel O. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 2010; 59 (3): 307–321.

7. Hwang M., Morgan R., Sarkar S., Wang P., Guttman D. Phylogenetic characterization of virulence and resistance phenotypes of *Pseudomonas syringae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005; 71 (9): 5182–5191. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5182-5191.2005>.

8. Ilić R., Balaž J., Stojšin V., Bagi F., Pivić R., Stanojković-Sebić A., Jošić D. Molecular characterization of *Pseudomonas syringae* pvs. from different host plants by repetitive sequence-based PCR and multiplex-PCR. *Zemdirbyste-Agriculture*, 2016; 103 (2): 199–206. URL: <https://doi.org/10.13080/z-a.2016.103.026>.

9. Morris C., Kinkel L., Xiao K., Prior P., Sands D. Surprising niche for the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Infection, Genetics and Evolution*, 2007; No. 7: 84–92.

10. Sakata N., Ishiga T., Ishiga Y. *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis* TrpA Is Required for Virulence in Multiple Host Plants. *Frontiers in microbiology*, 2021; No. 12: 1–11. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.659734>.

11. Sarkar S., Guttman D. Evolution of the core genome of *Pseudomonas syringae*, a highly clonal, endemic plant pathogen. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004; 70 (4): 1999–2012. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.02553-07>.

12. CABI Crop Protection Compendium, 2021. URL: <https://www.cabi.org>.

13. MUSCLE (v. 3.8.31). URL: https://drive5.com/muscle/downloads_v3.htm.

14. A multiple alignment viewer (MView). URL: <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/mview/>.

15. RefSeq: NCBI Reference Sequence Database, 2021. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>.

16. TreeDyn (v. 198.3). URL: http://phylogeny.lirmm.fr/phylo.cgi/one_task.cgi?task_type=treedyn.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Svetlana Prikhodko, Researcher, Head of Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, Laboratory Testing Center, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-1281-4410, e-mail: svetlana.prik@yandex.ru.

Anastasia Yaremko, Junior Researcher, Molecular and Genetic Diagnostic Methods Department, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-3295-8080, e-mail: an_ya94@mail.ru.

Elizaveta Starikova, Agronomist, Virology Laboratory, Laboratory Testing Center, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0001-6582-210X, e-mail: hed.robin@gmail.com.

Konstantin Kornev, PhD in Biology, Deputy Director, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Ramenskoye, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0002-3490-1857, e-mail: konstantin.kornev@gmail.com.

Союзный короед *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) – развитие очагов массового размножения в кедровых борах Западной Сибири

Ю.И. ГНИНЕНКО¹, А.В. ЧЕМОДАНОВ², А.Г. РАКОВ³, Р.И. ГИМРАНОВ⁴, Е.А. ЧИЛАХСАЕВА⁵

^{1, 3, 4, 5} ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства» (ФБУ «ВНИИЛМ»), г. Пушкино, Московская область, Россия

² Томский филиал ФБУ «Российский центр защиты леса» (ФБУ «Рослесозащита»), г. Томск, Россия

¹ ORCID 0000-0002-2815-3362,
e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

² e-mail: czl170@rcfh.ru

³ e-mail: rakoff.dom@mail.ru

⁴ e-mail: cclllc@mail.ru

⁵ e-mail: kchilahsaeva@yandex.ru

АННОТАЦИЯ

В некоторых припоселковых кедровых лесах Западной Сибири в 2017–2018 гг. был выявлен новый инвайдер европейского происхождения – союзный, или многоходный, короед *Ips amitinus*. Этот вселенец к настоящему времени сформировал очаги массового размножения в кедряках на площади 1,3 тыс. га в Томской и на площади 1,5 тыс. га в Кемеровской областях. В России он ранее встречался только в лесах самых западных регионов. В странах Европы этот ксилофаг связан с елью *Picea abies* и *Picea omorika*, с сосной *Pinus cembra*, *Pinus heldreichii*, *Pinus mugo*, *Pinus peuce* и *Pinus strobus*. Он также отмечен на пихте белой *Abies alba* и лиственнице европейской *Larix decidua*, но не причиняет заметного вреда. Однако в Западной Сибири он размножается на кедре сибирском *Pinus sibirica* и формирует интенсивно развивающиеся очаги. Очагов на других хвойных породах, широко распространенных в Западной Сибири, не отмечено.

В очагах союзного короеда в массе размножаются также короед-типограф *Ips typographus* и шестизубчатый короед *Ips sexdentatus*. Имеются поражения деревьев корневой губкой (возбудитель – гриб *Heterobasidion annosum*). На хвое заселенных стволовыми вредителями деревьев развивается патогенный гриб *Lophodermium pinastri*, вызывающий ее гибель. Меры защиты кедрячей в таких очагах еще не разработаны, и формирование очагов в припоселковых кедровых борах, которые в Томской области являются особо охраняемыми природными территориями, затрудняет их проведение. Такое положение способствует расширению инвазионного ареала союзного короеда в Западной Сибири.

Ключевые слова. Припоселковые боры, стволовые вредители, инвазивный ксилофаг, кедр сибирский.

Ips amitinus (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) – outbreaks development in the Siberian pine forests of Western Siberia

YU.I. GNINENKO¹, A.V. CHEMODANOV², A.G. RAKOV³, R.I. GIMRANOV⁴, E.A. CHILAKHSAEVA⁵

^{1, 3, 4, 5} FBU “All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry” (FBU “VNIILM”), Pushkino, Moscow Oblast, Russia

² Tomsk Branch of FGBU “Russian Center of Forest Health” (FBU “Roslesozashchita”), Tomsk, Russia

¹ ORCID 0000-0002-2815-3362,
e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

² e-mail: czl170@rcfh.ru

³ e-mail: rakoff.dom@mail.ru

⁴ e-mail: cclllc@mail.ru

⁵ e-mail: kchilahsaeva@yandex.ru

ABSTRACT

In 2017–2018, there was detected a new invader of European origin, eight-toothed spruce bark beetle *Ips amitinus*, in some Siberian pine forests near settlements in Western Siberia. This invader has by now formed outbreaks in Siberian pine forests on an area of 1.3 thousand hectares in Tomsk Oblast and on an area of 1.5 thousand hectares in Kemerovo Oblast. In Russia, it was previously detected only in the forests of the most western regions. In Europe, this xylophage is related to spruces *Picea abies* and *Picea omorika*, pines *Pinus cembra*, *Pinus heldreichii*, *Pinus mugo*, *Pinus peuce* and *Pinus strobus*. It was also detected on *Abies alba* and *Larix decidua*, without causing great damage. In Western Siberia, though, it propagated on *Pinus sibirica* and forms intensively developing outbreaks. No outbreaks on other conifers widespread in Western Siberia were detected.

In *Ips amitinus* outbreaks, there is a massive breeding of *Ips typographus* and *Ips sexdentatus*. Some trees are damaged by root rot of conifers (causative agent – fungus *Heterobasidion annosum*). On the needles of trees inhabited by stem pests, pathogenic fungus *Lophodermium pinastri*, causing its death, develops. Measures to protect Siberian pine forests in such outbreaks have not yet been developed, and the formation of outbreaks in Siberian pine forests near settlements, which are specially protected natural areas in Tomsk Oblast, makes their implementation difficult. This situation contributes to the expansion of the invasive range of *Ips amitinus* in Western Siberia.

Key words. Forests near settlements, stem pests, invasive xylophage, Siberian pine.

ВВЕДЕНИЕ



оюзный, или многоходный, или малый еловый, короед *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) – европейский вид, связанный с несколькими хвойными породами и не представляющий сколько-нибудь существенной угрозы для лесов в местах своего аборигенного обитания. Естественный ареал вида охватывает равнинные и горные леса Европы от Нидерландов на западе до Брянской области на востоке и от Германии до Италии и Балкан (Арнольди и др., 1955; Старк, 1952; Lubojacký, 2012; Mazur, Kuźmiński, 2013).

В XX веке он начал расширять ареал: в 30-х годах был обнаружен в Эстонии, а в середине века и в Финляндии (Annala, Nuorteva, 1977; Biermann, Thalenhorst, 1977; Grodzki, 1998; Koponen, 1975; Økland, Skarpaas, 2008; Voolma et al., 2004). Вид был случайно завезен с древесиной на Британские острова, в Швецию, США и Новую Зеландию (Økland et al., 2019).

Расширение ареала союзного короеда в России было отмечено в начале XXI века. До этого времени данный вид был отмечен только на самом западе европейской части России (Старк, 1952), и он достоверно отсутствовал в Ленинградской области (Яцентковский, 1930; Мандельштам, 1998).

В настоящее время *I. amitinus* отмечен в лесах Калининградской, Брянской, Псковской, Новгородской, Ленинградской областей и на юге Мурманской области (Mandelstam, 1999; Voolma et al., 2004); на территории Московской области и других регионов центра европейской части страны не обнаружен (Петров, 1998). В начале XXI века вид был обнаружен в Карелии (Яковлев, 2003), причем при его обнаружении он был ошибочно причислен к числу вселенцев азиатского происхождения. Многочисленные энтомологические исследования в Сибири также ранее не выявили присутствия в лесах этого короеда (Криволицкая, 1983; Яновский, 1999).

Повреждения, нанесенные союзным короедом в Сибири, впервые были выявлены в кедровых борах на севере Кемеровской области в 2014 г. (Керчев и др., 2019), а затем в 2018 г. в соседних районах Томской области. В европейской части своего ареала короед связан с елью *Picea abies* и *Picea omorika*, сосной *Pinus cembra*, *Pinus heldreichii*, *Pinus mugo*, *Pinus peuce* и *Pinus strobus*. Он также встречается на пихте белой *Abies alba* и лиственнице европейской *Larix decidua*, но заметного вреда нигде не причиняет. На севере европейской части России (Архангельская область) жук отмечен на сосне обыкновенной *P. sylvestris* (Мандельштам, 1998). Попадая в Западную Сибирь, союзный короед стал заселять предпочтительно сосну сибирскую *P. sibirica* и сильно вредить ей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в кедровых лесах Кемеровской и Томской областей методом специальных обследований. Заселенные союзным короедом деревья определяли глазомерно по характерному признаку – усыханию хвои на вершинах деревьев. Видовую принадлежность собранных жуков определяли

INTRODUCTION

Ips amitinus (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae, Scolytinae) is a European species associated with several conifers and does not pose any significant threat to forests in its native habitats. The natural area of the species covers the plain and mountain forests of Europe from the Netherlands in the west to Bryansk Oblast in the east and from Germany to Italy and the Balkans (Arnoldi et al., 1955; Stark, 1952; Lubojacký, 2012; Mazur, Kuźmiński, 2013).

In the 20th century, it began to expand its area: in the 1930s it was detected in Estonia, and in the middle of the century in Finland (Annala, Nuorteva, 1977; Biermann, Thalenhorst, 1977; Grodzki, 1998; Koponen, 1975; Økland, Skarpaas, 2008; Voolma et al., 2004). The species was accidentally introduced with wood to the British Isles, Sweden, the USA and New Zealand (Økland et al., 2019).

The expansion of the range of *Ips amitinus* in Russia was noted at the beginning of the 21st century. Until that time, this species was recorded only in the very west of the European part of Russia (Stark, 1952), and it was reliably absent in Leningrad Oblast (Yatsentkovsky, 1930; Mandelshtam, 1998).

At present, *I. amitinus* is reported in the forests of Kaliningrad Oblast, Bryansk Oblast, Pskov Oblast, Novgorod Oblast, Leningrad Oblast and in the south of Murmansk Oblast (Mandelstam, 1999; Voolma et al., 2004); on the territory of Moscow Oblast and other regions of the center of the European part of the country it was not detected (Petrov, 1998). In early 21st century, the species was detected in Karelia (Yakovlev, 2003), and upon its discovery, it was erroneously classified as an invasive Asian species. Numerous entomological studies in Siberia also did not previously reveal the presence of this bark beetle in the forests (Krivolutskaya, 1983; Yanovsky, 1999).

Damage caused by *I. amitinus* in Siberia was first identified in Siberian pine forests in the north of Kemerovo Oblast in 2014 (Kerchev et al., 2019), and then in 2018 in neighboring areas of Tomsk Oblast. In the European part of its area, *I. amitinus* is associated with *Picea abies* and *Picea omorika*, *Pinus cembra*, *Pinus heldreichii*, *Pinus mugo*, *Pinus peuce* and *Pinus strobus*. It is also detected on *Abies alba* and *Larix decidua*, without causing great damage. In the north of the European part of Russia (Arkhangelsk Oblast), the beetle is present on *P. sylvestris* (Mandelstam, 1998). Once introduced in Western Siberia, *I. amitinus* started invading mainly *P. sibirica* causing considerable damage.

MATERIALS AND METHODS

The work was carried out in the Siberian pine forests of Kemerovo Oblast and Tomsk Oblast by the method of special surveys. The trees inhabited by *I. amitinus* were determined visually by a characteristic feature – the drying of the needles on the tree tops. The species affiliation of the collected beetles was determined in the laboratory by morphological features, the correctness of the determination was confirmed by N.B. Nikitsky and A.V. Petrov.

в лаборатории по морфологическим признакам, правильность определения подтвердили Н.Б. Никитский и А.В. Петров.

В качестве спутниковых снимков использовали кадры, находящиеся в открытом доступе «Яндекса». Дешифрировали их по состоянию крон кедров, которое уточняли при проведении наземного обследования. Деревья, имевшие кроны слабо выраженного желтого цвета, относили к числу деревьев, свежезаселенных союзным короедом; деревья с оранжево-бурой окраской относили к числу заселенных; а деревья, обладавшие кроной с хвоей темно-бурого цвета или вовсе не имевшие хвои на кроне, относили к числу обработанных короедами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие очагов союзного короеда в Сибири

Попав в Сибирь, союзный короед нашел для себя благоприятные условия в припоселковых кедровых борах и стал опасным вредителем кедра, или сосны сибирской, *Pinus sibirica*. Несмотря на то, что в европейской части ареала он заселяет и другие хвойные породы, в Сибири пока не найдены его массовые поселения ни на каких иных хвойных, кроме кедра. Выбор именно этой сосны в новом инвазионном ареале, возможно, объясняется тем, что среди его кормовых деревьев в Европе известен родственный вид – европейская кедровая сосна *Pinus cembra*. Однако, несмотря на то, что в местах инвазии короеда произрастают и другие хвойные породы, в частности ель сибирская *Picea obovata*, лиственница сибирская *Larix sibirica* и сосна обыкновенная *Pinus sylvestris*, его поселения обнаружены кроме кедра лишь sporadически на ели сибирской (Kerchev et al., 2019).

Все древостои кедра, в которых смог закрепиться союзный короед, были в 2017–2018 гг. в той или иной степени повреждены гусеницами сибирского шелкопряда *Dendrolimus sibiricus*, а в некоторых борах в начале XXI века отмечалась повышенная численность рыжего соснового пилильщика *Neodiprion sertifer*, личинки которого нанесли повреждения кронам в ряде лесных массивов.

Повсеместно в обследованных нами кедровых древостоях имеется или диффузное, или очаговое поражение деревьев корневой губкой (возбудитель – гриб *Heterobasidion annosum*), и большинство деревьев в древостоях повреждены околотом при сборе шишек. Причем наиболее интенсивно развивается очаг в Лучаново-Ипатовском бору (Томская область), который был сильно поврежден гусеницами сибирского шелкопряда в 2017 г. Кроны деревьев на части площади этого лесного массива оказались настолько поврежденными, что начался отпад наиболее сильно пострадавших деревьев. Именно в этой части бора началось и размножение союзного короеда (рис. 1).

В упомянутом лесном массиве в 2010–2012 гг. А.Д. Масловым были проведены испытания феромонов шестизубчатого короеда и короеда-типографа. Материалы сохранились, и при их изучении было установлено отсутствие в них экземпляров союзного короеда, что косвенно свидетельствует о том, что в те годы вредитель еще не был распространен в данном регионе.

Первые очаги союзного короеда в Кемеровской области были обнаружены на территории

As satellite images, images from the public domain of Yandex were used. They were deciphered according to the condition of the Siberian pine crowns, which was specified during a ground survey. Trees that had crowns of a slightly pronounced yellow color were attributed to the number of trees newly populated by *I. amitinus*; trees with an orange-brown color were classified as inhabited; and trees that had a crown with dark brown needles or did not have needles on the crown at all were classified as worked out by bark beetles.

RESULTS AND DISCUSSION

Development of *I. amitinus* outbreaks in Siberia

Once introduced in Siberia, *I. amitinus* found favourable conditions in Siberian pine forests near settlements and became a serious Siberian pest of Siberian pine, *Pinus sibirica*. Despite the fact that in the European part of its area, it also inhabits other coniferous species, its mass colonizations have not yet been detected in Siberia on any other coniferous trees, except for Siberian pine. The choice of this particular pine in the invasive area is perhaps explained by the fact that among its host trees in Europe, the related species *Pinus cembra* is known. However, despite the fact that other conifers also grow in places of bark beetle invasion, in particular, *Picea obovata*, *Larix sibirica* and *Pinus sylvestris*, its colonies were detected, except for Siberian pine, only sporadically on Siberian spruce (Kerchev et al., 2019).

In 2017–2018, all Siberian pine stands which *I. amitinus* could colonize, were damaged to some extent by *Dendrolimus sibiricus* caterpillars, and at the beginning of the 21st century in some pine forests, an increased number of *Neodiprion sertifer* were reported, the larvae of which caused damage to the crowns in some forests.

Everywhere in the Siberian pine stands surveyed by us, there is either diffuse or outbreak damage to trees by root rot of conifers (causative agent – fungus *Heterobasidion annosum*), and most of the trees in the stands are damaged near the cones when they are harvested. Moreover, the outbreak develops most intensively in Luchanovo-Ipatovsky pine forest (Tomsk Oblast), which was severely damaged by Siberian silkworm caterpillars in 2017. The tree crowns in some areas of this forest were so damaged that the most severely affected trees began to fall off. It was in this part of the forest that the breeding of *I. amitinus* began (Fig. 1).

In the mentioned forest area in 2010–2012, A.D. Maslov tested the pheromones of the six-toothed bark beetle and the eight-toothed spruce bark beetle. The materials were preserved, and during their study it was found that there were no specimens of *I. amitinus* in them, which indirectly indicates that in those years the pest was not yet common in this region.

The first *I. amitinus* outbreaks in Kemerovo Oblast were detected on the territory of the Yashkinsky Siberian pine forest in 2014 (Kerchev et al., 2019; Kerchev et al., 2021). This forest is located less than 100 km south of Luchanovo-Ipatovsky pine forest in Tomsk Oblast, where the pest was first detected in 2018.

It is also important to establish as accurately as possible the reason for the appearance of a new invader in Western Siberia. It has already been suggested

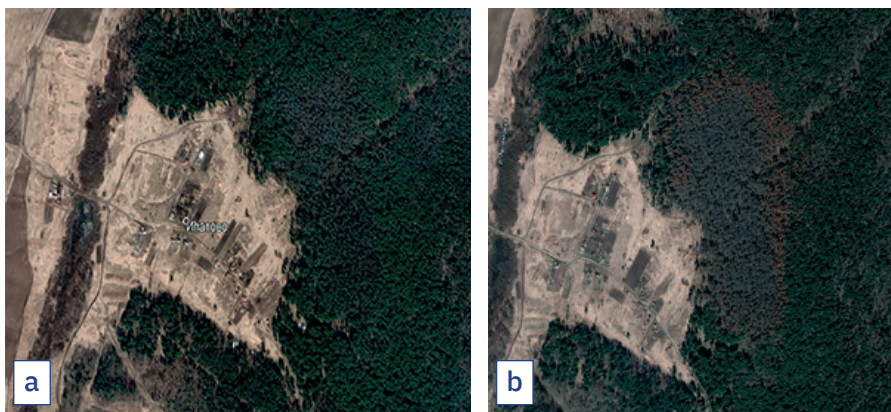


Рис. 1. Очаг в Лучаново-Ипатовском бору: а – 2018 г.; б – 2019 г. («Яндекс.Карты», д. Ипатово)

Fig. 1. Outbreak in Luchanovo-Ipatovskoy pine forest: a – 2018; b – 2019 (Yandex.Maps, Ipatovo)

Яшкинского кедровника в 2014 г. (Керчев и др., 2019; Керчев и др., 2021). Этот лес расположен менее чем в 100 км к югу от Лучаново-Ипатовского бора в Томской области, где вредитель впервые был выявлен в 2018 г.

Важное значение имеет также максимально точное установление причины появления нового инвайдера в Западной Сибири. Уже высказано (Орлова-Беньковская, 2016) и поддержано другими исследователями (Керчев и др., 2021) предположение о том, что союзный короед был завезен в новые места обитания по железной дороге. Это предположение следует признать неточным, так как ясно, что инвайдер не мог преодолеть расстояние в несколько тысяч километров без «использования» средств транспорта. И, с точки зрения результата, совершенно неважно, каким транспортом он «воспользовался»: это может быть и авто-, и авиа-, и железнодорожный транспорт. Если все же предположить, что завоз был осуществлен по железной дороге, то остается неясным, почему на всем протяжении железной дороги от западных границ России (а то, что короед завезен именно из Европы, никто не оспаривает) до места его первого обнаружения в кедровнике вокруг п. г. т. Яшкино Кемеровской области он нигде не смог закрепиться. В связи с этим есть основание полагать, что он прибыл в Яшкино с грузом, который предназначался именно для этого населенного пункта. И груз мог быть перевезен любым видом транспорта. Но какой же груз мог быть завезен в этот поселок из Западной Европы? Обращает на себя внимание тот факт, что в первом десятилетии XXI века в Яшкино активно переоборудовался большой кондитерский комбинат. На его официальном сайте легко найти информацию о том, что он закупал в Австрии, Италии, Дании и других странах современное оборудование для модернизации своего производства. По нашему мнению, именно с таким оборудованием и был завезен этот инвайдер. Есть вероятность, что завоз мог произойти с деревянной тарой, на которой остались участки коры. В результате этого в Западную Сибирь могли быть завезены не 1–2 особи, что не позволило бы короеду закрепиться в новом месте, а небольшая популяция. Это обеспечило успешность вселения, и отсюда инвайдер начал уже самостоятельно распространяться по лесам Западной Сибири.

(Orlova-Benkovskaya, 2016) and supported by other researchers (Kerchev et al., 2021) that *I. amitinus* was introduced to new habitats by rail. This assumption should be recognized as inaccurate, since it is clear that the invader could not cover a distance of several thousand kilometers without “using” means of transport. And, from the point of view of the result, it doesn’t matter at all what kind of transport he “used”: it can be auto, air, and rail transport. If, nevertheless, we assume that the introduction was carried out by rail, then it remains unclear why along the entire length of the railroad from

the western borders of Russia (and no one disputes that the bark beetle was imported from Europe) to the place of its first detection in the Siberian pine forest around settlement of Yashkino, Kemerovo Oblast, it could not settle anywhere. In this regard, there is reason to believe that it was introduced in Yashkino with a cargo that was intended specifically for this settlement. And the cargo could be transported by any mode of transport. But what kind of cargo could be brought to this village from Western Europe? It is noteworthy that in the first decade of the 21st century a large confectionery factory was actively refurbished in Yashkino. On its official website, it is easy to find information that it purchased modern equipment in Austria, Italy, Denmark and other countries to modernize the production. In our opinion, this invader was introduced with such equipment. There is a possibility that the delivery could have taken place with wooden containers, on which sections of the bark remained. As a result, not 1–2 individuals could be brought to Western Siberia, which would not allow the bark beetle to settle in a new place, but a small population. This ensured the success of the introduction, and from here the invader began to independently spread through the forests of Western Siberia.

The appearance of *I. amitinus* was immediately adequately assessed, which was not done at the time when *Polygraphus proximus* appeared (Baranchikov, Krivets, 2010). First attempts were made to apply measures to protect Siberian pines from a new pest already 2 years after its first detection. However, decisions to carry out the first protection measures were taken in the condition of many uncertainties. Firstly, many important features of the biology of the bark beetle in new habitats were not known. Secondly, both drugs approved for use against the pest and technologies for their use were completely absent. Therefore, an attempt was made to use those measures that, without guaranteeing success, allowed us to hope for some reduction in the number of pests. We placed pheromone traps with pheromones of *Ips typographus* and *Ips sexdentatus*, which are non-target for *I. amitinus*. The experiment was considered unsuccessful, since a very small number of individuals of *I. amitinus* were caught.

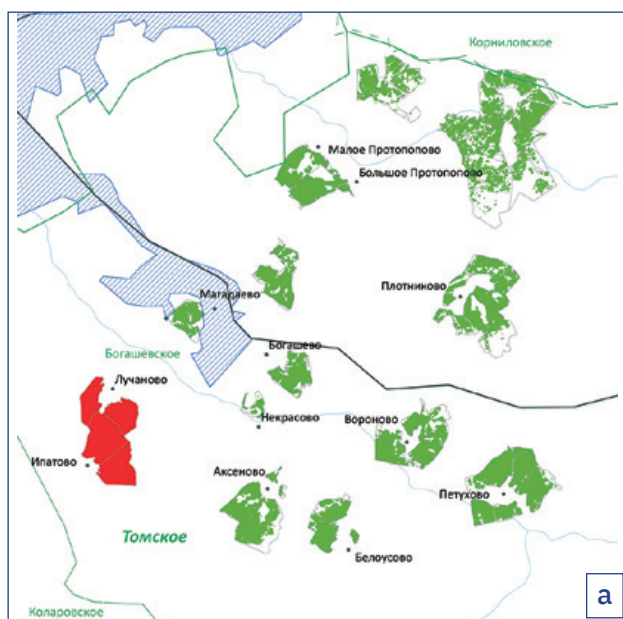


Рис. 2. Динамика формирования очагов союзного короеда в кедровых лесах юга Томской области: а – 2019 г.; б – 2021 г.

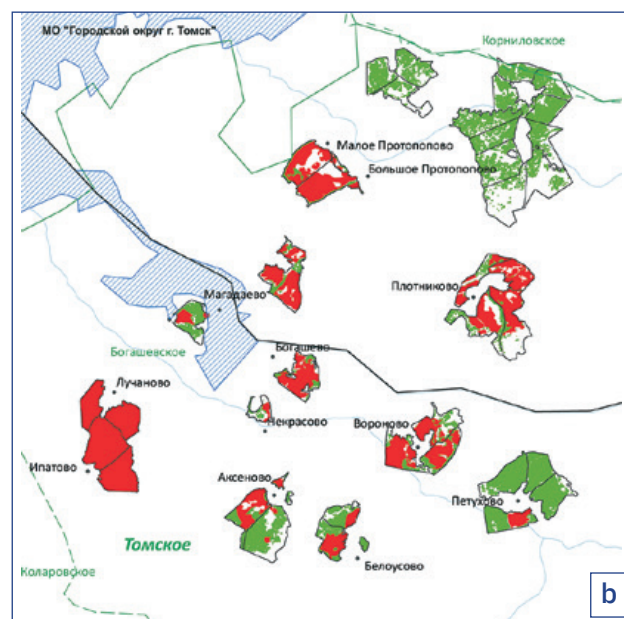


Fig. 2. Dynamics of the *I. amitinus* outbreaks formation of in the Siberian pine forests of the south of Tomsk Oblast: а – 2019; б – 2021

Появление союзного короеда сразу же было адекватно оценено, что не было сделано в свое время при появлении уссурийского полиграфа (Баранчиков, Кривец, 2010). И уже через 2 года после его первого выявления были предприняты первые попытки применить меры защиты кедровых лесов от нового вредителя. Но решения о проведении первых мероприятий по защите принимались в условиях множества неопределенностей. Во-первых, не были известны многие важные особенности биологии короеда в новых для него местах обитания. Во-вторых, полностью отсутствовали как разрешенные к применению против вредителя препараты, так и технологии их использования. Поэтому была предпринята попытка использовать те меры, которые, не гарантируя успеха, позволяли надеяться на некоторое снижение уровня численности особей вредителей. Нами были вывешены феромонные ловушки с нецелевыми для *I. amitinus* феромонами



Рис. 3. Погибшая часть Базойского бора и очаги союзного короеда («Яндекс.Карты», с. Базой)

Fig. 3. Dead part of Bazoysky pine forest and *I. amitinus* outbreak (Yandex.Maps, village of Bazoy)

The outbreaks in Tomsk Oblast developed rather quickly, and already in 2020, they were identified in other Siberian pine forests. Figure 2 shows the development of outbreaks in the southern part of the region. In addition, an outbreak of *I. amitinus* and its accompanying species is also formed in the southeastern part of the region (Bazoysky pine forest), where the Siberian pine also previously suffered from the feeding on the crowns by Siberian silkworm caterpillars (Fig. 3).

Over the years since the first discovery of these outbreaks, their area has increased significantly (see Table). All of them were detected only in the so-called village forests and have not yet been found in the taiga massifs of Siberian pines. Apparently, such localization of outbreaks can be explained by the fact that people in Siberia created their settlements in the warmest, well-heated areas, which were occupied by Siberian pine forests, often mixed with deciduous species. It was in such conditions that *I. amitinus* found the most favorable conditions for itself.

Since the first detection, the outbreak area in Kemerovo Oblast has increased by 4.3 times, and in Tomsk Oblast – by 6.3 times. The more intensive development of Siberian pine drying in Tomsk Oblast, associated with the reproduction of *I. amitinus*, indirectly confirms that the forest stands damaged by the Siberian silkworm caterpillars are more intensively developed by this invader, since the forests near the settlements of Tomsk Oblast were more severely damaged by this phytophage.

Satellite images show that single trees showing signs of damage by this bark beetle are detected in many Siberian pine stands in the south of Tomsk Oblast and north of Kemerovo Oblast up to the borders of Novosibirsk Oblast (Fig. 4).

Таблица
Развитие очагов союзного короеда
в Кемеровской и Томской областях

Показатели	2017	2018	2019	2020	2021
Кемеровская область					
Площадь очагов, га	300,6	619,6	1033,4	1228,0	1307,3
Число лесничеств с очагами	1	1	1	2	2
Томская область					
Площадь очагов, га	0	0	238,5	1207,5	1512,9
Число лесничеств с очагами	0	0	1	3	3

короеда-типографа и шестизубчатого короеда. Но опыт был признан неудачным, так как было выловлено очень небольшое число особей союзного короеда.

Очаги в Томской области развивались довольно быстро, и уже в 2020 г. они были выявлены в других кедровниках. На рисунке 2 отражено развитие очагов в южной части области. Кроме этого, формируется очаг союзного короеда и сопутствующих ему видов и в юго-восточной части области (Базойский бор), где кедр также ранее пострадал от объедания крон гусеницами сибирского шелкопряда (рис. 3).

За прошедшие годы после первого обнаружения этих очагов их площадь существенно возросла (см. таблицу). Все они выявлены только в так называемых припоселковых борах и еще не обнаружены в таежных массивах кедров. По-видимому, такую локализацию очагов можно объяснить тем, что люди в Сибири создавали свои поселения в наиболее теплых, хорошо прогреваемых участках, которые были заняты кедровыми, часто смешанными с лиственными породами, лесами. Именно в таких условиях союзный короед нашел наиболее благоприятные для себя условия.

С момента первого обнаружения площадь очагов в Кемеровской области к настоящему времени возросла в 4,3 раза, а в Томской области – в 6,3 раза. Более интенсивное развитие усыхания кедра в Томской области, связанное с размножением союзного короеда, косвенно подтверждает, что древостои, поврежденные гусеницами сибирского шелкопряда, более интенсивно осваиваются этим инвайдером, так как припоселковые боры Томской области были более сильно повреждены данным фитофагом.

Спутниковые снимки показывают, что единичные деревья, имеющие признаки повреждения этим короедом, имеются во многих кедровых древостоях юга Томской и севера Кемеровской областей до границ Новосибирской области (рис. 4).

Особенности формирования очагов

Союзный короед заселяет деревья по вершинному типу (рис. 5). После заселения им вершины дерева, в остальных частях ствола поселяются другие стволовые насекомые, в том числе короед-типограф *Ips typographus* и шестизубчатый короед *Ips sexdentatus*. Такое смешанное заселение приводит дерево к гибели в течение 1–2 лет. Очаги развиваются быстро, и все 3 вида ксилофагов вызывают гибель древостоя (рис. 6).

Table
Development of *I. amitinus* outbreaks
in Kemerovo Oblast and Tomsk Oblast

Indicators	2017	2018	2019	2020	2021
Kemerovo Oblast					
Outbreaks area, ha	300.6	619.6	1033.4	1228.0	1307.3
Number of forest areas with outbreaks	1	1	1	2	2
Tomsk Oblast					
Outbreaks area, ha	0	0	238.5	1207.5	1512.9
Number of forest areas with outbreaks	0	0	1	3	3

Features of outbreaks formation

I. amitinus populates trees by vertex type (Fig. 5). After it populates the top of the tree, other stem insects settle in other parts of the trunk, including *Ips typographus* and *Ips sexdentatus*. Such mixed populations lead the tree to death within 1–2 years. The outbreak develops rapidly, and all 3 xylophagous species cause the death of the stand (Fig. 6).

In forest areas that have been weakened by damage to Siberian silkworm caterpillars, *I. amitinus* primarily destroys heavily damaged trees and gradually expands the outbreak, populating the trees around the primary outbreak (Fig. 1).

In other forests, when populating, *I. amitinus* also chooses, first of all, weakened trees, and then gradually

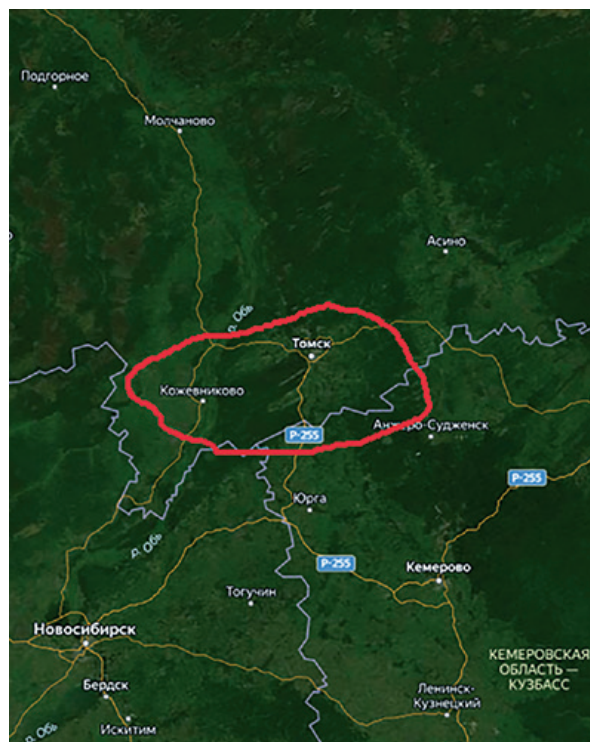


Рис. 4. Ареал союзного короеда в Западной Сибири («Яндекс.Карты», п. г. т. Яшкино)

Fig. 4. *I. amitinus* area in Western Siberia (Yandex.Maps, settlement Yashkino)



Рис. 5. Заселенные союзным короедом деревья (фото авторов)

Fig. 5. Trees populated by *I. amitinus* (photo by the authors)

В лесных участках, которые были ослаблены повреждениями гусениц сибирского шелкопряда, союзный короед в первую очередь уничтожает сильно поврежденные деревья и постепенно расширяет очаг, заселяя деревья вокруг первичного очага (рис. 1).

В других борах союзный короед при заселении также выбирает в первую очередь чем-либо ослабленные деревья, а затем постепенно начинает заселять другие, в том числе здоровые. Он постепенно ослабляет их, пока не получает возможность заселения. Не исключено, что первые деревья, заселяемые короедом в новых очагах, поражены корневой губкой или сильно ослаблены последствиями многолетнего околота при сборе шишек местным населением.

После начала заселения верхней части ствола союзным короедом, хвоя на вершинах приобретает бурый цвет. Это происходит из-за ее интенсивного поражения патогенными микромицетами, в первую очередь грибом *Lophodermium pinastri* – возбудителем обыкновенного шютте. Этот гриб поражает хвою на всех частях кроны в местах заселения как союзного короеда, так и других стволовых вредителей.

По-видимому, если бы в кедровниках действовали очаги только союзного короеда, то некоторые деревья после потери вершинной части кроны могли бы оправиться, но прочие стволовые вредители заселяют другие части ствола, а гриб *Lophodermium pinastri* уничтожает хвою у заселенных стволовыми вредителями деревьев, что и приводит к гибели деревьев.

Дальнейшее возможное развитие инвазии и меры защиты

Первоначально в Западной Сибири союзный короед начал формировать очаги массового размножения в припоселковых кедровых борах. Как указано выше, вероятно, это связано с тем, что такие боры произрастают на более прогреваемых элементах рельефа, которые люди выбирали для своих поселений. Под

begins to colonize others, including healthy ones. It gradually weakens them until getting the opportunity to populate. It is possible that the first trees colonized by the bark beetle in new outbreak are affected by the root rot of conifers or are severely weakened by the consequences of long-term beating when collecting cones by the local population.

After the beginning of the colonization of the upper part of the trunk with *I. amitinus*, the needles on the tops become brown. This is due to its intense damage by pathogenic micromycetes, primarily by the fungus *Lophodermium pinastri*. This fungus infects needles on all parts of the crown in places of population of both *I. amitinus* and other stem pests.

Apparently, if there were only *I. amitinus* outbreaks in the Siberian pine forests, then some trees could recover after the loss of the top part of the crown, but other stem pests inhabit other parts of the trunk, and the fungus *Lophodermium pinastri* destroys needles from trees inhabited by stem pests, which leads to the death of trees.

Further possible development of invasion and protection measures

Initially, in Western Siberia, *I. amitinus* began to form outbreaks in the Siberian pine forests near the village. As mentioned above, this is probably due to the fact that such forests grow on warmer relief elements that people chose for their settlements. Under the influence of human economic activity, these forests gradually turned into almost pure Siberian pine forests, which were exploited for many years to obtain pine nuts. Weakened by many years of beating, damage by needle-eating pests, and the development of root rot of conifers, such forests became available for the

воздействием хозяйственной деятельности людей эти боры постепенно превратились практически в чистые кедррачи, которые в течение многих лет эксплуатировались для получения кедрового ореха. Ослабленные многолетним околотом, повреждениями хвоегрызущих вредителей, развитием корневой губки, такие леса стали доступными для вселения в них нового, чуждого для них, ксилофага. Ранее для того чтобы предотвратить вырубку припоселковых кедровых древостоев, в них было запрещено проведение любых видов рубок. Таким образом, союзный короед в местах своей инвазии в первую очередь заселяет припоселковые кедровые леса. После того, как этот ксилофаг существенно увеличил численность в первых освоенных им местообитаниях, он начал расширять свой формирующийся инвазионный ареал не только на другие припоселковые леса, но также, по нашим наблюдениям, уже проникает в таежные кедррачи. По-видимому, в таких лесах очаги появятся прежде всего на прогреваемых участках в равнинной части Западной Сибири, а также в горных лесах Саян и Алтая. Пока такие очаги не выявлены, но это, скорее всего, является делом времени и следствием недостаточной обследованности территорий.

Развитие инвазии делает крайне необходимой разработку системы мер защиты кедрра от союзного короеда. Такая система должна состоять как минимум из двух важных составляющих: защиты древостоев от стволовых вредителей, включая указанного ксилофага, и от болезней и защиты создаваемых молодняков на месте погибших лесов.

В настоящее время меры по защите кедрра от союзного короеда и сопутствующих ему видов стволовых вредителей, а также болезней отсутствуют. Поскольку для вылова жуков в кедррачах из-за законодательных ограничений нельзя использовать ловчие деревья, было решено применять ловчие штабельки. Их создавали из порубочных остатков, собранных на лесосеках в других лесничествах, формируя штабельки из веток и вершин кедрра и других хвойных пород (рис. 7). Такие штабельки

introduction of a new xylophage alien to them. Previously, in order to prevent the felling of Siberian pine stands near the village, it was forbidden to carry out any kind of felling in them. Thus, *I. amitinus* in the places of its invasion primarily inhabits the Siberian pine forests near the village. After this xylophage significantly increased in numbers in the first habitats it mastered, it began to expand its emerging invasive area not only to other near-village forests, but also, according to our observations, is already penetrating into taiga Siberian pine forests. Apparently, in such forests, outbreaks will appear primarily in warmed areas in the flat part of Western Siberia, as well as in the mountain forests of the Sayan and Altai. So far, such outbreaks have not been detected, but this is most likely a matter of time and a consequence of insufficient examination of the territories.

The development of invasion makes it extremely necessary to develop a system of measures to protect Siberian pine from *I. amitinus*. Such a system should consist of at least two important components: protection of forest stands from stem pests, including the indicated xylophage, and diseases and protection of young stands created in the place of dead forests.

At present, there are no measures to protect Siberian pines from *I. amitinus* and associated species of stem pests, as well as diseases. Since trapping trees cannot be used to catch beetles in Siberian pine forests due to legal restrictions, it was decided to use trapping piles. They were created from logging residues collected at cutting areas in other forest areas, forming stacks of branches and tops of Siberian pine and other conifers (Fig. 7). Such piles were laid out before the beginning of the flight of beetles (at the end of April), and after the colonization by bark beetles, they were taken out of the forest. This method is just beginning to find application and still needs a detailed evaluation of its effectiveness.

This method of reducing the number of stem pests can be included in a set of measures aimed at limiting their numbers (Mukhamadiyev et al., 2020).

Currently, studies have begun on the possibility of applying various protective measures, including

the point application of chemical pesticides, the use of entomopathogens and entomophages.

However, the development of the phytosanitary situation in these forests makes it urgent to develop not only measures to protect against stem pests, but also measures to restore dead forests, young Siberian pine forests from diseases.

It is also necessary to conduct a detailed study of the characteristics of the biology of *I. amitinus*, since at present such important features of its biology in new habitats as the choice of wintering places and the fauna of its parasitic entomophages remain unstudied.



Рис. 6. Погибший древостой (фото авторов)

Fig. 6. Dead tree stand (photo by the authors)



Рис. 7. Ловчие штабельки (фото авторов)

Fig. 7. Trapping piles (photo by the authors)

выкладывали перед началом лёта жуков (в конце апреля), а после заселения короёдами их вывозили из бора. Этот метод только начинает находить применение и еще нуждается в проведении детальной оценки его эффективности.

Данный метод снижения численности стволовых вредителей может быть включен в комплекс мероприятий, направленных на сдерживание роста их численности (Мухамадиев и др., 2020).

В настоящее время начаты исследования по возможности применения разных мер защиты, в том числе точечного применения химических пестицидов, использования энтомопатогенов и энтомофагов.

Однако развитие фитосанитарной ситуации в этих борах делает актуальной разработку не только мер защиты от стволовых вредителей, но и мер по восстановлению погибших лесов, кедровых молодняков от болезней.

Необходимо также провести детальное изучение особенностей биологии союзного короёда, так как в настоящее время неизученными остаются такие важные особенности его биологии в новых местах обитания, как выбор им мест зимовки, фауна его паразитических энтомофагов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Появление нового опасного инвайдера в хвойных лесах Западной Сибири привело к гибели кедровых древостоев в местах его инвазии и формированию сложных очагов вредителей и болезней в заселенных лесах. Формирование вторичного ареала союзного короёда в хвойных лесах Сибири только началось, поэтому необходимо сосредоточить усилия лесоводов, защитников леса и научного сообщества на разработке эффективных мер защиты от нового вселенца и мер по восстановлению погибших лесов.

Благодарность. Авторы выражают свою искреннюю благодарность коллегам Н.Б. Никитскому (г. Москва) и А.В. Петрову (ИЛ РАН, с. Успенское Московской обл.) за подтверждение идентификации имаго союзного короёда.

Работа осуществлена в рамках выполнения плановых исследований по государственному контракту № 037310003222100027 «Разработка научно обоснованных методических рекомендаций по безопасному применению современных системных и трансламинарных пестицидов с целью защиты кедровых насаждений от стволовых вредителей, в том числе многоходного (союзного) короёда».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арнольди Л., Медведев С., Плавильщиков Н., Старк В., Тер-Минасян М. Отряд Coleoptera – Жесткрылые, или жуки. – В кн.: Вредители леса, справочник. М.-Л.: АН СССР, 1955. Т. 2, с. 425–737.
2. Баранчиков Ю., Кривец С., 2010. О профессионализме при определении насекомых: как рассмотрели появление нового агрессивного вредителя пихты в Сибири. – Экология Южной Сибири и сопредельных территорий, 1 (14): 50–52.
3. Керчев И., Мандельштам М., Кривец С., Илинский Ю., 2019. Союзный короёд *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) – новый чужеродный вид в Западной Сибири. – Энтомологическое обозрение, 98 (3): 592–599.

CONCLUSION

The appearance of a new dangerous invader in the coniferous forests of Western Siberia led to the death of Siberian pine stands in the places of its invasion and the formation of complex outbreaks of pests and diseases in the inhabited forests. The formation of the secondary area of *I. amitinus* in the coniferous forests of Siberia has just begun, so it is necessary to focus the efforts of foresters, forest defenders and the scientific community on the development of effective measures to protect against the new invader and measures to restore dead forests.

Acknowledgements. The authors express their sincere gratitude to colleagues N.B. Nikitsky (Moscow) and A.V. Petrov (IL RAS, Uspenskoe village, Moscow Oblast) for confirming the identification of *I. amitinus* imagoes.

The work was carried out as part of planned research under the state contract No. 037310003222100027 “Development of scientifically based methodological recommendations for the safe use of modern systemic and translaminar pesticides in order to protect Siberian pine plantations from stem pests, including *I. amitinus*”.

REFERENCES

1. Arnoldi L., Medvedev S., Plavilshchikov N., Stark V., Ter-Minasyan M. Order Coleoptera – Coleoptera, or beetles. In: Pests of the forest, reference book. M.-L.: AN SSSR, 1955; 2: 425–737 (in Russian).
2. Baranchikov Yu., Krivets S. On professionalism in identifying insects: how they overlooked the emergence of a new aggressive pest of fir in Siberia [O professionalizme pri opredelenii nasekomykh: kak prosmotreli poyavleniye novogo agressivnogo vreditelya pikhity v Sibiri]. *Ecology of Southern Siberia and adjacent territories*, 2010; 1 (14): 50–52.
3. Kerchev I., Mandelshtam M., Krivets S., Ilin-sky Yu. Small spruce bark beetle *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae): a new alien species in Western Siberia. *Entomological Review*, 2019; 98 (3): 592–599 (in Russian).
4. Kerchev I., Krivets S., Bisirova E., Smirnov N., 2021. Distribution of the small spruce bark beetle *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) in Western Siberia. *Russian Journal of Biological Invasions*, No. 4: 77–84 (in Russian).
5. Krivolutskaya G. Ecological and geographical characteristics of the fauna of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) of Northern Asia [Ekologo-geograficheskaya kharakteristika fauny koroyedov (Coleoptera, Scolytidae) Severnoy Azii]. *Entomological review*, 1983; 62 (2): 287–301 (in Russian).
6. Mandelshtam M. New data on the fauna of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) of the Leningrad Oblast [Novyye dannyye o faune koroyedov (Coleoptera, Scolytidae) Leningradskoy oblasti]. In: Problems of entomology in Russia. Collection of scientific papers of the XI Congress of the Russian Entomological Society (September 23–26, 1997, St. Petersburg). ZIN RAN. 1998; 2: 23–24 (in Russian).
7. Mukhamadiev N., Gninenko Yu., Ashykbaev N., Mendibaeva G., Kenes N. Atlas of dominant insect

4. Керчев И., Кривец С., Бисирова Э., Смирнов Н., 2021. Распространение союзного короеда *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) в Западной Сибири. – Российский журнал биологических инвазий, № 4: 77–84.
5. Криволицкая Г., 1983. Эколого-географическая характеристика фауны короедов (Coleoptera, Scolytidae) Северной Азии. – Энтомологическое обозрение, 62 (2): 287–301.
6. Мандельштам М., 1998. Новые данные о фауне короедов (Coleoptera, Scolytidae) Ленинградской области. – В кн.: Проблемы энтомологии в России. Сборник научных трудов XI Съезда Русского энтомологического общества (23–26 сентября 1997 г., Санкт-Петербург). ЗИН РАН. Т. 2, с. 23–24.
7. Мухамадиев Н., Гниненко Ю., Ашыкбаев Н., Мендибаева Г., Кенес Н. Атлас доминантных видов насекомых – ксилофагов ели Шренка. – Алматы, 2020, 75 с.
8. Орлова-Беньковская М., 2016. Можно ли отличить чужеродные виды жесткокрылых (Coleoptera) от местных? – Энтомологическое обозрение, 95 (2): 71–89.
9. Петров А., 1998. Фауна короедов Московской области. – Экология, мониторинг и рациональное природопользование. М.: МГУ Леса. Сб. научн. тр., 294 (1): 198–211.
10. Старк В. Жесткокрылые. Короеды. Фауна СССР. – М.-Л., АН СССР, 1952, Т. 31, 461 с.
11. Яковлев Е., 2003. Тенденции изменения энтомофауны Карелии в XX веке (на примере отдельных потенциально вредоносных, а также редких и уязвимых видов насекомых). – Тр. Карельского НЦ РАН. Биogeография Карелии (Флора и фауна таежных экосистем). Петрозаводск, № 4: 141–145.
12. Яновский В., 1999. Аннотированный список короедов (Coleoptera, Scolytidae) Северной Азии. – Энтомологическое обозрение, 78 (2): 327–362.
13. Яцентковский А. Определитель короедов по повреждениям. – М.: Сельхозгиз, 1930, 266 с.
14. Annala E., Nuorteva M., 1977. Dates of attack and emergence of *Ips amitinus* Eichh. (Col., Scolytidae) in Finland. – Ann. Ent. Fenn., 43 (1): 28–30.
15. Biermann G., Thalenhorst W., 1977. Zur Kenntnis des “kleinen Buchdruckers”, *Ips amitinus* (Eichh.) (Col., Scolytidae). – Anzeiger Schädlingskunde und Pan-zenschutz Umweltschutz, 50 (2): 20–23.
16. Grodzki W. Szkodniki wtórne świerka – kornik drukarz i kornik drukarczyk. – Biblioteczka Leśniczego, 1998, 95 p.
17. Kerchev I., Krivets S., Mandelshtam M. *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) – a new pest of *Pinus sibirica* in Western Siberia. – In: Invasive dendrophilous organisms: challenges and protection operations. Collective monograph. Under the general edition of Gninenko Yu.I. Pushkino: VNIILM, 2019, p. 110–118.
18. Koponen M., 1975. Distribution of *Ips amitinus* Eichh. (Coleoptera, Scolytidae) in Finland in 1950–1973. – Ann. Ent. Fenn., № 41: 65–69.
19. Lubojacký J., 2012. Lýkožrout menší *Ips amitinus* (Eichhoff, 1871). – Lesnická práce, № 10: 1–4.
20. Mazur A., Kuźmiński R., 2013. Phenology of development and population characteristics of the small spruce bark beetle *Ips amitinus* (Eichh.) in the Karkonoski National Park. – Folia Forestalia Polonica, series A, 55 (2): 89–96.

species – xylophagous Schrenk spruce [Atlas dominantnykh vidov nasekomykh – ksilofagov yeli Shrenka]. Almaty, 2020; 75 p. (in Russian).

8. Orlova-Bienkowskaja M. Is it possible to distinguish alien species of beetles (Coleoptera) from native ones? [Mozhno li otlichit chuzherodnyye vidy zhestkokrylykh (Coleoptera) ot mestnykh?]. *Entomological Review*, 2016; 95 (2): 71–89 (in Russian).

9. Petrov A. Fauna of bark beetles in Moscow Oblast [Fauna koroyedov Moskovskoy oblasti]. *Ecology, monitoring and rational use of natural resources*. M.: MGU Lesa. Sat. scientific tr., 1998; 294 (1): 198–211 (in Russian).

10. Stark V. Coleoptera. Bark beetles. Fauna of the USSR [Zhestkokrylyye. Koroyedy. Fauna SSSR]. M.-L., USSR Academy of Sciences, 1952: 31: 461 p. (in Russian).

11. Yakovlev E. Trends in changes in the entomofauna of Karelia in the 20th century (on the example of certain potentially harmful, as well as rare and vulnerable species of insects) [Tendentsii izmeneniya entomofauny Karelii v KHKH veke (na primere otдельnykh potentsial'no vredonosnykh, a takzhe redkikh i uyazvimykh vidov nasekomykh)]. Tr. Karelian Scientific Center of the Russian Academy of Sciences. Biogeography of Karelia (Flora and fauna of taiga ecosystems). Petrozavodsk, 2003; 4: 141–145 (in Russian).

12. Yanovsky V. Annotated list of bark beetles (Coleoptera, Scolytidae) of Northern Asia [Annotirovanny spisok koroyedov (Coleoptera, Scolytidae) Severnoy Azii]. *Entomological Review*, 1999; 78 (2): 327–362 (in Russian).

13. Yatsentkovsky A. Key to bark beetles by damage [Opredelitel koroyedov po povrezhdeniyam]. M.: Selkhozgiz, 1930, 266 p. (in Russian).

14. Annala E., Nuorteva M., 1977. Dates of attack and emergence of *Ips amitinus* Eichh. (Col., Scolytidae) in Finland. *Ann. Ent. Fenn.*, 43 (1): 28–30.

15. Biermann G., Thalenhorst W., 1977. Zur Kenntnis des “kleinen Buchdruckers”, *Ips amitinus* (Eichh.) (Col., Scolytidae). *Anzeiger Schädlingskunde und Pan-zenschutz Umweltschutz*, 50 (2): 20–23.

16. Grodzki W. Szkodniki wtórne świerka – kornik drukarz i kornik drukarczyk. Biblioteczka Leśniczego, 1998, 95 p.

17. Kerchev I., Krivets S., Mandelshtam M. *Ips amitinus* (Eichhoff, 1872) (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) – a new pest of *Pinus sibirica* in Western Siberia. In: Invasive dendrophilous organisms: challenges and protection operations. Collective monograph. Under the general edition of Gninenko Yu.I. Pushkino: VNIILM, 2019, p. 110–118.

18. Koponen M., 1975. Distribution of *Ips amitinus* Eichh. (Coleoptera, Scolytidae) in Finland in 1950–1973. *Ann. Ent. Fenn.*, No. 41: 65–69.

19. Lubojacký J., 2012. Lýkožrout menší *Ips amitinus* (Eichhoff, 1871). – *Lesnická práce*, No. 10: 1–4.

20. Mazur A., Kuźmiński R., 2013. Phenology of development and population characteristics of the small spruce bark beetle *Ips amitinus* (Eichh.) in the Karkonoski National Park. *Folia Forestalia Polonica*, series A, 55 (2): 89–96.

21. Mandelshtam M., 1999. Current status of *Ips amitinus* Eichh. (Coleoptera, Scolytidae) in North-West Russia. – *Entomologica Fennica*, 10 (1): 29–34.

22. Økland B., Flø D., Schroeder M., Zach P., Cocos D., Martikainen P., Siitonen J., Mandelshtam M., Musolin D., Neuvonen S., Vakula J., Nikolov Ch., Lindelöw Å., Voolma K., 2019. Range expansion of the small spruce bark beetle *Ips amitinus*: a newcomer in northern Europe. – *Agricultural and Forest Entomology*, № 21: 286–298.

23. Økland B., Skarpaas O., 2008. Draft pest risk assessment report on the small spruce bark beetle, *Ips amitinus*. Commissioned report from Norwegian Forest and Landscape Institute, 10/2008.

24. Voolma K., Mandelshtam M., Shcherbakov A., Yakovlev E., Öunap H., Süda I., Popovichev B., Sharapa T., Galasjeva T., Khairtdinov R., Lipatkin V., Mozolevskaya E., 2004. Distribution and spread of bark-beetles (Coleoptera: Scolytidae) around the Gulf of Finland: a comparative study with note on rare species of Estonia, Finland and North-Western Russia. – *Entomologica Fennica*, 15 (4): 198–210.

25. Яндекс.Карты, д. Ипатово [Электронный ресурс]. – URL: https://yandex.ru/maps/geo/derevnya_ipatovo/53116520/?l=sat%2Cskl&ll=85.051984%2C56.328553&z=16 (дата обращения: 05.04.2022).

26. Яндекс.Карты, с. Базой [Электронный ресурс]. – URL: https://yandex.ru/maps/geo/selo_bazoy/53115960/?l=sat&ll=83.344413%2C55.737214&rl=85.050707%2C56.330770~-0.000472%2C-0.000840~-0.005665%2C-0.002611~-0.004292%2C-0.000286&z=15 (дата обращения: 05.04.2022).

27. Яндекс.Карты, п. г. т. Яшкино [Электронный ресурс]. – URL: https://yandex.ru/maps/geo/posyolok_gorodskogo_tipa_yashkino/53109822/?l=sat%2Cskl&ll=86.177595%2C56.373394&z=7 (дата обращения: 05.04.2022).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

Чемоданов Александр Васильевич, директор Томского филиала ФБУ «Рослесозащита», г. Томск, Россия; *e-mail: czl170@rcfh.ru*.

Раков Александр Генрихович, кандидат биологических наук, заведующий группой лаборатории защиты леса от инвазивных и карантинных организмов ФБУ «ВНИИЛМ», г. Пушкино, Московская область, Россия; *e-mail: rakoff.dom@mail.ru*.

Гимранов Роман Ильгисович, научный сотрудник лаборатории защиты леса от инвазивных и карантинных организмов ФБУ «ВНИИЛМ», г. Пушкино, Московская область, Россия; *e-mail: cclllc@mail.ru*.

Чилахсаева Екатерина Александровна, ведущий инженер лаборатории защиты леса от инвазивных и карантинных организмов ФБУ «ВНИИЛМ», г. Пушкино, Московская область, Россия; *e-mail: kchilahsaeva@yandex.ru*.

21. Mandelshtam M., 1999. Current status of *Ips amitinus* Eichh. (Coleoptera, Scolytidae) in North-West Russia. *Entomologica Fennica*, 10 (1): 29–34.

22. Økland B., Flø D., Schroeder M., Zach P., Cocos D., Martikainen P., Siitonen J., Mandelshtam M., Musolin D., Neuvonen S., Vakula J., Nikolov Ch., Lindelöw Å., Voolma K., 2019. Range expansion of the small spruce bark beetle *Ips amitinus*: a newcomer in northern Europe. *Agricultural and Forest Entomology*, No. 21: 286–298.

23. Økland B., Skarpaas O., 2008. Draft pest risk assessment report on the small spruce bark beetle, *Ips amitinus*. Commissioned report from Norwegian Forest and Landscape Institute, 10/2008.

24. Voolma K., Mandelshtam M., Shcherbakov A., Yakovlev E., Öunap H., Süda I., Popovichev B., Sharapa T., Galasjeva T., Khairtdinov R., Lipatkin V., Mozolevskaya E., 2004. Distribution and spread of bark-beetles (Coleoptera: Scolytidae) around the Gulf of Finland: a comparative study with note on rare species of Estonia, Finland and North-Western Russia. *Entomologica Fennica*, 15 (4): 198–210.

25. Yandex.Maps, Ipatovo village [Electronic resource]. URL: https://yandex.ru/maps/geo/derevnya_ipatovo/53116520/?l=sat%2Cskl&ll=85.051984%2C56.328553&z=16 (last accessed: 05.04.2022).

26. Yandex.Maps, p. Base [Electronic resource]. URL: https://yandex.ru/maps/geo/selo_bazoy/53115960/?l=sat&ll=83.344413%2C55.737214&rl=85.050707%2C56.330770~-0.000472%2C-0.000840~-0.005665%2C-0.002611~-0.004292%2C-0.000286&z=15 (last accessed: 05.04.2022).

27. Yandex.Maps, p. g. t. Yashkino [Electronic resource]. URL: https://yandex.ru/maps/geo/posyolok_gorodskogo_tipa_yashkino/53109822/?l=sat%2Cskl&ll=86.177595%2C56.373394&z=7 (last accessed: 05.04.2022).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Yuri Gninenko, PhD in Biology, Senior Researcher, 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*.

Aleksandr Chemodanov, director of the Tomsk branch of FBU “Roslesozashchita”, Tomsk, Russia; *e-mail: czl170@rcfh.ru*.

Aleksandr Rakov, PhD in Biology, Head of the Laboratory Group for Forest Protection from Invasive and Quarantine Organisms, VNIILM, Pushkino, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: rakoff.dom@mail.ru*.

Roman Gimranov, Researcher, Laboratory for Forest Protection from Invasive and Quarantine Organisms, VNIILM, Pushkino, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: cclllc@mail.ru*.

Ekaterina Chilahsaeva, Lead Engineer, Laboratory for Forest Protection from Invasive and Quarantine Organisms, VNIILM, Pushkino, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: kchilahsaeva@yandex.ru*.

Хотите получить высокий урожай? Шмели помогут вам!

Более 500 видов возделываемых растений зависят от опылительной деятельности насекомых, прежде всего различных видов пчел. В последние десятилетия, в связи с развитием промышленного разведения семей шмелей, активно внедряется биологическое опыление различных сельскохозяйственных культур в теплицах, а также в открытом грунте. Пчелоопыляемые культуры дают около 1/3 продуктов растениеводства. Сейчас трудно себе представить получение высоких урожаев на некоторых культурах без использования шмелей.

Биологическая лаборатория по круглогодичному культивированию шмелей организована в Ивановском филиале ФГБУ «ВНИИКР» в 2018 г. В лаборатории выращивают шмелиные семьи по оригинальной технологии, разработанной в Агробиоцентре Ивановского тепличного комбината (1995–2015 гг.).

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАБОТЫ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ:

- обеспечение тепличных хозяйств качественными шмелиными семьями для опыления культур защищенного грунта (томат, огурец, перец, баклажан и др.);
- обеспечение хозяйств шмелиными семьями для опыления культур открытого грунта (плодово-ягодные культуры, подсолнечник, клевер, люцерна и др.);
- производство инвертированного сиропа для кормления шмелей;
- проведение научных исследований и технологических разработок в области шмелеводства;
- проведение селекционной работы с целью получения шмелиных семей высокого качества.

Шмели, выращенные в биолaborатории Ивановского филиала ФГБУ «ВНИИКР», близки по характеристикам и качеству к шмелям лучших европейских производителей.

Важным фактором является то, что культивируемый нами вид *Bombus terrestris* (большой земляной шмель), обитает в природе европейской части России. Таким образом, применяя шмелей данного вида для опыления, мы не наносим вред биоценозу, т. е. не привносим что-либо новое и нежелательное для природы европейской части России.

Культивируемые семьи шмелей полностью лишены паразитов и инфекционных заболеваний, что подтверждается ветеринарным свидетельством и достигается системой профилактических и лечебных мероприятий, проводимых в лаборатории.



Выращивание шмелей в нашей лаборатории проводится с максимальным учетом их естественного развития. В частности, матки-основательницы проходят контролируемое спаривание, оптимальную по срокам холодовую диапаузу и выгулы, что позволяет допускать наиболее качественных маток к организации семьи. Шмелиные семьи на всех стадиях развития проходят жесткую браковку для повышения потенциала дальнейшего развития, воспроизводства и выдачи. Используемый нами стандарт шмелиной семьи для выдачи (одна активная репродуктивная матка, 100–120 крупных рабочих-фуражиров, расплод в достаточном количестве на разных стадиях) дает возможность противостоять неблагоприятным условиям теплиц и открытого грунта и продолжать развитие в течение 2–2,5 месяца. При оптимальных условиях и хорошей кормовой базе семьи могут сохранять работоспособность до 3 месяцев.

На время длительной транспортировки шмелиная семья комплектуется транспортировочной поилкой с инвертированным сиропом и запасом цветочной пыльцы. По прибытии необходимо открыть основную канистру с сиропом, содержимого которой хватит на весь срок эксплуатации семьи. Инвертированный сахарный сироп представляет собой смесь моносахаров (глюкоза, фруктоза и др.) с добавлением комплекса витаминов.

Также для стабильности сиропа в условиях повышенных температур в теплицах или открытом грунте добавлен пищевой консервант в безопасном для шмелей количестве. Инвертированный сироп оптимален для питания, не сахарится и не бродит. Шмели полностью поедают сироп к концу эксплуатации семьи. Таким образом, пустая канистра из-под сиропа свидетельствует о том, что шмелиная семья была активна, хорошо питалась и выполняла опыление растений.

В биолaborатории шмели выращиваются на наиболее качественной свежемороженой цветочной пыльце, собранной пчелами с первоцветов. Такая пыльца имеет наилучшие питательные свойства для выкармливания личинок шмелей. В итоге мы получаем крупную личинку и крупных шмелей-фуражиров, которые могут успешно собирать пыльцу с растений в условиях теплиц и открытого грунта. Это очень важный технологический момент, т. к. если в семье будут только мелкие шмели, то им просто не будет хватать физических сил для сбора пыльцы, и в итоге семья погибнет.

Внешний картонный улей выполнен из кашированного гофрокартона марки Т-23В (3-слойный гофрокартон + картон-лайнер Multicolor 230) с отделкой глянцевой ламинацией. На передней стенке улья нанесена инструкция пользования летком и краткая инструкция размещения шмелиного улья.

Рекомендуемые нормы постановки семей шмелей

Сельскохозяйственные культуры	Количество ульев/га
Томаты, перцы, баклажаны закрытого грунта	6–8
Пчелоопыляемые огурцы	10–12
Земляника закрытого грунта	от 4
Семеноводство закрытого грунта	1–2 на 1000 м ²
Малина, земляника открытого грунта	от 4
Жимолость, голубика, косточковые	6–8
Тыква, кабачок, патиссон	4–6
Клевер, рапс, люцерна, подсолнечник	4–6



Гнездовая камера для шмелиной семьи и канистра для сиропа изготовлены из пищевого пластика. Все пластиковые элементы улья могут быть возвратными, т. е. овощеводам и ягодолюбам не нужно их утилизировать.

Агрономам хозяйств мы оказываем оперативную консультационную помощь по вопросам применения шмелей на различных культурах сельскохозяйственных растений. Специалистам хозяйств будет оказана консультационная помощь по вопросам целесообразности применения шмелей на определенных сельскохозяйственных культурах (люцерна, голубика, лен и др.).

Особо важен вопрос опыления семенных растений на небольших площадях.

При использовании шмелей необходимо постоянно контролировать и оценивать уровень опыления, т. к. переопыление цветков растений может привести к негативным последствиям.

КОНТАКТЫ:

Ю.А. Требукова,
директор Ивановского филиала ФГБУ «ВНИИКР»,
e-mail: vniikr-ivanovo@rambler.ru,
тел: 8-906-512-93-39,
+7 (499) 707-22-27 (доб. 2601)

В.А. Пономарев,
доктор биологических наук, заведующий
биолaborаторией Ивановского филиала
ФГБУ «ВНИИКР»,
e-mail: corvus-37@yandex.ru,
тел: 8-905-106-39-44,
+7 (499) 707-22-27 (доб. 2606)

Адрес Ивановского филиала ФГБУ «ВНИИКР»:
153012, г. Иваново, ул. Молодых Рабочих, д. 1

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>