



Устойчивость гороха  
к *Pseudomonas syringae* pv. *pisii*

17

Листовые нематоды  
рода *Aphelenchoides*

28

Фитосанитарные риски  
при перемещении семян

54

# ФИТОСАНИТАРИЯ. КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

## PLANT HEALTH AND QUARANTINE

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

Русско-английский научный журнал

Ноябрь № 4 (16) 2023

### СТАТЬЯ НОМЕРА:

Грибные заболевания сои  
на Дальнем Востоке 2

Развитие паслена каролинского 40

Изоляция возбудителя *Pseudomonas  
fuscovaginae* из семян 67



# Редакционная коллегия

# Editorial board

## ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

СОЛОВЬЕВ А.А. – доктор биологических наук, профессор, профессор РАН, заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР»,  
e-mail: solovievaa@vniikr.ru

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА:

КАРМАЗИН А.П. – кандидат биологических наук, заместитель Руководителя Россельхознадзора, Москва, Россия

ДОЛЖЕНКО В.И. – академик РАН, профессор, доктор сельскохозяйственных наук, руководитель центра биологической регламентации пестицидов, старший научный сотрудник ФГБНУ ВИЗР, Санкт-Петербург, Россия

ЛАЧУГА Ю.Ф. – академик РАН, профессор, доктор технических наук, член Президиума РАН, Москва, Россия

СОЛОВЬЕВА Н.Н. – кандидат биологических наук, начальник Управления фитосанитарного надзора при экспортно-импортных операциях и международного сотрудничества Россельхознадзора, Москва, Россия

МУСОЛИН Д.Л. – доктор биологических наук, научный сотрудник, Европейская и Средиземноморская организация по защите растений, Париж, Франция

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

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

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

БАЛАШОВА И.Т. – доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории новых технологий ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», поселок ВНИИССОК, Одинцовский городской округ, Московская обл., Россия

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

УСКОВ А.И. – доктор сельскохозяйственных наук, заведующий отделом биотехнологии и иммунодиагностики ФГБНУ ВНИИКХ им. А.Г. Лорха, д. п. Красково, г. Люберцы, Московская обл., Россия

КОРНЕВ К.П. – кандидат биологических наук, заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия

ШНЕЙДЕР Ю.А. – кандидат биологических наук, начальник научно-методического и экспериментального центра ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия

## РЕДАКЦИЯ:

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

ОЛЕШКЕВИЧ В.В. – шеф-редактор, кандидат филологических наук

ЧЕРЕПАНОВА В.В. – редактор-корректор

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

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

ДРЕНОВА Н.В. – старший научный сотрудник научно-методического отдела вирусологии и бактериологии ФГБУ «ВНИИКР»

КАСАТКИН Д.Г. – ведущий научный сотрудник Ростовского филиала ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

КУЛАКОВА Ю.Ю. – ведущий научный сотрудник – начальник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

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

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

КУЧЕРЯВЫХ В.С. – переводчик, кандидат филологических наук

## СПЕЦИАЛЬНОСТИ:

4.1.3 – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

4.1.1 – Общее земледелие и растениеводство

4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений

## CHIEF EDITOR:

A. A. SOLOVIEV – Doctor of Advanced Studies in Biology, Professor, Professor of the RAS, Deputy Director of FGBU “VNIKCR”,  
e-mail: solovievaa@vniikr.ru

## EDITORIAL BOARD:

A. P. KARMAZIN – PhD in Biology, Deputy Head of Rosselkhoznadzor, Moscow, Russia

V. I. DOLZHENKO – Member of the RAS, Professor, Doctor of Advanced Studies in Agriculture, Head of the Center for Pesticides Biological Regulation, Senior Researcher of FSBSI VIZR, Saint Petersburg, Russia

YU. F. LACHUGA – RAS Member of the, Professor, Doctor of Advanced Studies in Engineering, RAS Presidium member, Moscow, Russia

N. N. SOLOVYOVA – PhD in Biology, Head of the Department of Phytosanitary Surveillance for Export-Import Operations and International Cooperation of Rosselkhoznadzor, Moscow, Russia

D. L. MUSOLIN – Doctor of Advanced Studies in Biology, Researcher, EPPO, Paris, France

A. S. SHAMILOV – PhD in Biology, FAO Expert in Agriculture, Deputy Head of IPPC Secretariat Standards Development Group, Rome, Italy

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

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

I. T. BALASHOVA – Doctor of Advanced Studies in Biology, Chief Researcher of the Laboratory of New Technologies of FGBNU “Federal Scientific Center of Vegetable Growing”, VNISSOK, Odintsovo city district, Moscow Oblast, Russia

F. S. DZHALILOV – Doctor of Advanced Studies in Biology, Professor, Head of the Plant Protection Laboratory at Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia

A. I. USKOV – Doctor of Advanced Studies in Agriculture, Head of the Biotechnology and Immunodiagnosics Department of FGBNU “Lorch Potato Research Institute”, Kraskovo, Lyubertsy, Moscow Oblast, Russia

K. P. KORNEV – PhD in Biology, Deputy Director of FGBU “VNIKCR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia

YU. A. SHNEYDER – PhD in Biology, Head of Research and Methodology and Experimental Center, FGBU “VNIKCR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia

## EDITORSHIP:

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

V. V. OLESHKEVICH – Editor-in-Chief, PhD in Philology

V. V. CHEREPANOVA – Copy Editor

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

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

N. V. DRENOVA – Senior Researcher, Research and Methodology Department of Virology and Bacteriology, FGBU “VNIKCR”

D. G. KASATKIN – Leading Researcher of the Rostov Branch of FGBU “VNIKCR”, PhD in Biology

YU. YU. KULAKOVA – Leading Researcher, Head of Research and Methodology Department of Invasive Plant Species, FGBU “VNIKCR”, PhD in Biology

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

S. V. SUDARIKOVA – Senior Researcher, Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKCR”

V. S. KUCHERYAVYKH – Translator, PhD in Philology

## SPECIALTIES:

4.1.3 – Agrochemistry, agricultural soil science, plant protection and quarantine

4.1.1 – General farming and crop production

4.1.2 – Breeding, seed production and plant biotechnology

# Содержание | Content

## НАУКА И ПРАКТИКА

### Грибные заболевания сои на Дальнем Востоке

И.П. ДУДЧЕНКО, А.А. КУЗНЕЦОВА,  
Г.Н. ДУДЧЕНКО, М.Б. КОПИНА,  
Н.К. КОСТИН

### Изучение устойчивости сортов гороха к возбудителю бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*

И.М. ИГНАТЬЕВА, А.С. БАКАЕВА

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ

### Листовые нематоды рода *Aphelenchoides* на декоративных и дикорастущих растениях

Е.А. ХУДЯКОВА, С.В. СУДАРИКОВА,  
Е.В. БУТОВ, Е.А. ВАРФОЛОМЕЕВА

## ФИТОСАНИТАРНЫЕ РИСКИ

### Изучение сезонного развития паслена каролинского *Solanum carolinense* L. в условиях контролируемого опыта

Л.Е. ДЕМУШКИНА, Ю.Ю. КУЛАКОВА,  
В.Г. КУЛАКОВ

### Оценка фитосанитарных рисков, связанных с экспортом, импортом и перемещением семенного материала моркови и других зонтичных культур

Н.Г. ВАЛЕЕВА

## ДИАГНОСТИКА

### Изоляция возбудителя бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae* из семян

А.А. ДЕСЯТЕРИК, О.Ю. СЛОВАРЕВА,  
Е.П. КОНОНОВА

## RESEARCH AND PRACTICE

### Fungal diseases of soybean in the Far East

IRINA P. DUDCHENKO, ANNA A. KUZNETSOVA,  
GENNADY N. DUDCHENKO, MARIA B. KOPINA,  
NIKITA K. KOSTIN

### Study of pea cultivars resistance to pea bacterial blight *Pseudomonas syringae* pv. *lisi*

IRINA M. IGNATIEVA, ALEKSANDRA S. BAKAEVA

## IDENTIFICATION

### Foliar nematodes of the genus *Aphelenchoides* on ornamental and wild plants

ELENA A. KHUDYAKOVA, STELLA V. SUDARIKOVA,  
EVGENY V. BUTOV, ELIZAVETA A. VARFOLOMEEVA

## PEST RISKS

### Study of seasonal development of *Solanum carolinense* L. under controlled experimental conditions

LUDMILA E. DEMUSHKINA,  
YULIANA YU. KULAKOVA, VITALY G. KULAKOV

### Pest risks analysis connected with export, import and movement of seed material of carrots and other Umbelliferae crops

NATALYA G. VALEEVA

## DIAGNOSIS

### Isolation of sheath brown rot pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* from seeds

ANASTASIA A. DESYATERIK, OLGA YU. SLOVAREVA,  
ELENA P. KONONOVA

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:**  
Колония *Diaporthe caulivora* (автор фото: Г.Н. Дудченко)  
**Дизайн и верстка:** Мария Бондарь  
**Учредитель:** ФГБУ «ВНИИКР», 140150, Московская область, г. о. Раменский, 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 «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7  
**Тираж** 3000 экз.  
**Подписано в печать:** 16.11.2023  
**Дата выхода в свет:** 06.12.2023

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:** *Diaporthe caulivora* colony (author: G.N. Dudchenko)  
**Design & Composition:** Mariya Bondar  
**Establisher:** FGBU VNIICR, 140150, Moskovskaya oblast, Urban district Ramensky, r. p. Bykovo, Pogranichnaya ulitsa, 32

**Publisher:** ООО "Veynard"  
**Editorial Board Office:**  
**Tel:** +7 (495) 925-06-34  
**E-mail:** veinardltd@gmail.com  
**Subscription indexes:**  
АО Agentstvo "Rospechat" – 81075  
ООО Agentstvo "Kniga-Servis" – 33095  
**Printing house:**  
GRAND PRI,  
7 Lugovaya St., Rybinsk,  
Yaroslavl Oblast, 152900  
**Circulation:** 3000 copies  
**Approved for print:** 16/11/2023  
**Issue date:** 06/12/2023

## Грибные заболевания сои на Дальнем Востоке

\* ДУДЧЕНКО И.П.<sup>1</sup>, КУЗНЕЦОВА А.А.<sup>2</sup>,  
ДУДЧЕНКО Г.Н.<sup>3</sup>, КОПИНА М.Б.<sup>4</sup>,  
КОСТИН Н.К.<sup>5</sup>

<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-0169-414X,  
e-mail: dudchenko\_irina@vniikr.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyyznec@bk.ru

<sup>3</sup> e-mail: dudchenko\_gennadiy@vniikr.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0002-1613-1764,  
e-mail: Kopinamaria645@gmail.com

<sup>5</sup> ORCID 0009-0003-8066-0753,  
e-mail: kostinwork1@gmail.com

### АННОТАЦИЯ

Соя – одна из самых востребованных и рентабельных сельскохозяйственных культур в мире. Заболевания, вызываемые грибными патогенами, являются одним из основных факторов, ограничивающих ее производство. В статье приводится информация о заболеваниях сои, распространенных в России, и Дальневосточном регионе в частности. В 2022 г. сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» было проведено частичное обследование фитосанитарного состояния посадок сои в Амурской области. Исследование проводилось с целью определения видового состава возбудителей грибных заболеваний сои в условиях Дальнего Востока РФ и методов их идентификации. В результате исследований были выявлены грибные патогены, относящиеся к 14 видам, 9 родам, 7 семействам, 5 порядкам и 2 классам. Самыми многочисленными оказались представители рода *Fusarium* – 6 видов. Род *Colletotrichum* включил в себя 4 вида. Остальные 7 родов были представлены по 1 виду. Среди выделенных и идентифицированных патогенов наиболее вредоносными и экономически значимыми являются представители родов *Colletotrichum* и *Diaporthe*, вызывающие антракноз и рак сои. На растениях сои было одновременно обнаружено 3 возбудителя антракноза – *C. truncatum*, *C. incanum* и *C. sojae*, что в значительной степени может усложнить борьбу с этим заболеванием. Также на растениях сои были выявлены такие опасные и экспортно значимые для России виды, как *Diaporthe caulivora* и *Phomopsis longicolla*. При проведении исследования морфологических структур возбудителей был выявлен ранее неизвестный штамм *D. caulivora*, содержащий в цикле своего развития пикнидиальную стадию. При этом в пикнидах одновременно присутствовали как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -споры. Результаты, полученные культурально-морфологическим методом, были подтверждены с помощью секвенирования нуклеотидных последовательностей по внутреннему транскрибируемому спейсеру ITS рибосомальной ДНК с дальнейшим сравнением их с эталонными последовательностями в Генбанке NCBI.

## Fungal diseases of soybean in the Far East

\* IRINA P. DUDCHENKO<sup>1</sup>, ANNA A. KUZNETSOVA<sup>2</sup>,  
GENNADY N. DUDCHENKO<sup>3</sup>, MARIA B. KOPINA<sup>4</sup>,  
NIKITA K. KOSTIN<sup>5</sup>

<sup>1, 2, 3, 4, 5</sup> FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIKIR”), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-0169-414X,  
e-mail: dudchenko\_irina@vniikr.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0001-8443-2641, e-mail: kyyznec@bk.ru

<sup>3</sup> e-mail: dudchenko\_gennadiy@vniikr.ru

<sup>4</sup> ORCID 0000-0002-1613-1764,  
e-mail: Kopinamaria645@gmail.com

<sup>5</sup> ORCID 0009-0003-8066-0753,  
e-mail: kostinwork1@gmail.com

### ABSTRACT

Soybeans are one of the most required and profitable crops in the world. Diseases caused by fungal pathogens are one of the main factors limiting its production. The article provides information about soybean diseases common in Russia and the Far East region in particular, with the description of the course and the symptoms. In 2022, employees of FGBU “VNIKIR” conducted a survey of the phytosanitary state of soybean plantings of the All-Russian Scientific Research Institute of Soybean in Amur Oblast. The survey was carried out to determine the species composition of pathogens of soybean fungal diseases in the conditions of the Far East of the Russian Federation and methods for their identification. As a result of the research, fungal pathogens belonging to 14 species, 9 genera, 7 families, 5 orders and 2 classes were detected. The most numerous were members of the genus *Fusarium* – 6 species. The genus *Colletotrichum* included 4 species. The rest 7 genera were represented by 1 species. Among the detected and identified pathogens, the most harmful and economically significant are representatives of the genera *Colletotrichum* and *Diaporthe*, causing anthracnose, canker and soybean phomopsis. Three anthracnose pathogens were simultaneously detected on soybean plants – *C. truncatum*, *C. incanum* and *C. sojae*, which can greatly complicate control of this disease. Also, such dangerous and export-significant species for Russia were detected on soybean plants, such as *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* and *Phomopsis longicolla*. When conducting a study of the pathogens' morphological structures, a previously unknown *D. caulivora* strain was identified, containing a pycnidial stage in its development cycle. Moreover, both  $\alpha$ - and  $\beta$ -spores were simultaneously present in the pycnidia. The results obtained by the cultural and morphological method were confirmed by sequencing nucleotide sequences using the internal transcribed spacer ITS of ribosomal DNA with further comparison with reference sequences in the NCBI GenBank.

**Ключевые слова.** Возбудители болезней сои, фитопатогенное состояние, листовые пятнистости, корневые гнили, *Colletotrichum incanum*, *Colletotrichum sojae*, *Colletotrichum truncatum*, *Diaporthe caulivora*, *Phomopsis longicolla*.

## ВВЕДЕНИЕ



а последние 40 лет мировое производство сои увеличилось более чем на 400% (Линников, 2018). В истории еще ни одна культура не давала столь значимой прибавки. Из нишевой позиции соя превратилась в одну из самых востребованных и рентабельных агрокультур в мире.

Основная часть урожая идет на нужды животноводства – соевый жмых и шрот. По данным Росстата, в нашей стране этой культуре отведено 4,3% от общей площади, занимаемой сельхозкультурами, что составляет 3507 тыс. га (Рынок сои в 2022 г.). В 2022 г. в нашей стране был собран рекордный урожай сои – 5,8 млн тонн, однако это количество не покрывает всех потребностей народного хозяйства, и недостающие объемы приходится импортировать. После февраля 2022 г. в связи с введением санкций возможности и структура импорта существенно изменились. Поэтому для удовлетворения потребностей в соепродуктах необходимо, помимо увеличения посевных площадей, повышать урожайность сои и качество собираемого урожая, особенно его фитосанитарную составляющую, так как одной из основных причин, сдерживающих увеличение урожайности сои, является действие патогенных грибов, которые значительно сокращают урожай и ухудшают его качество.

Наиболее распространенными и вредоносными в условиях нашей страны являются такие заболевания сои, как антракноз, фузариоз, ризоктониоз и белая гниль. В годы с большим количеством осадков также проявляют себя септориоз, аскохитоз, пероноспороз, фомосис и серая гниль.

Амурская область является традиционным районом выращивания сои, что обусловлено ее соседством с Китаем, который является родиной данной культуры и основным ее потребителем на мировом рынке. Целью проводимого исследования было определение видового состава возбудителей грибных заболеваний сои в условиях Дальнего Востока РФ, изучение их культурально-морфологических особенностей и методов идентификации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В августе 2022 г. сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» было проведено частичное обследование фитосанитарного состояния посадок сои в Амурской области. Во время обследования были собраны образцы листьев и стеблей сои с различными симптомами некрозов, пятнистостей и общего увядания.

Для лабораторных исследований были представлены 15 образцов растений сои, отдельные части которых были помещены в условия влажной

**Key words.** Pathogens of soybean diseases, phytopathogenic state, leaf spots, root rot, *Colletotrichum incanum*, *Colletotrichum sojae*, *Colletotrichum truncatum*, *Diaporthe caulivora*, *Phomopsis longicolla*.

## INTRODUCTION



ver the past 40 years, global soybean production has increased by more than 400% (Linnikov, 2018). In history, no culture has ever given such a significant increase.

From a niche position, soybeans have become one of the most sought-after and profitable crops in the world. The main part of the crop goes to the needs of animal husbandry – soybean cake and meal. According to Rosstat, in Russia 4.3% of the total area occupied by agricultural crops is allocated to this crop, which is 3,507 thousand hectares (Soybean market in 2022). In 2022, Russia collected a record soybean harvest of 5.8 million tons, but this amount does not cover all the needs of the national economy, and the missing volumes have to be imported. The structure of imports has changed significantly due to the sanctions. Therefore, to meet the needs for soy products, it is necessary, in addition to increasing the sown area, to increase the soybean yield and the quality of the harvested crop, especially its phytosanitary component, since one of the main reasons hindering the increase in soybean yield is the action of pathogenic fungi, which significantly reduce the yield and worsen its quality.

The most common and harmful diseases in Russia are soybean diseases such as rhizoctoniosis, fusarium, anthracnose and white rot. In years with high precipitation, septoria, ascochitosis, downy mildew, phomopsis and gray rot also manifest themselves.

Amur Oblast is a traditional soybean growing area, due to its proximity to China, which is the birthplace of this crop and its main consumer on the world market. The purpose of the study was to determine the species composition of soybean fungal diseases pathogens in the Far East of the Russian Federation, study their cultural and morphological characteristics and identification methods.

## MATERIALS AND METHODS

In August 2022, the researchers of FGBU “VNIKR” conducted a partial survey of the phytosanitary condition of soybean plantings in Amur Oblast. During the survey, samples of soybean leaves and stems were collected with various symptoms of necrosis, spotting and general wilting.

For laboratory study, 15 soybean plant samples were presented, individual parts of which were placed in a humid chamber. After sporulation appeared in the infected areas, spores with mycelium were

**Табл. 1. Список выделенных изолятов грибов и их таксономическое положение**  
**Table 1. List of fungal isolates and their taxonomic position**

№	Вид Species	Род Genus	Семейство Family	Порядок Order	Класс Class
1	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria</i>	Pleosporaceae	Pleosporales	Dothideomycetes
2	<i>Cercospora</i> sp.	<i>Cercospora</i>	Mycosphaerellaceae	Capnodiales	Dothideomycetes
3	<i>Colletotrichum</i> sp.	<i>Colletotrichum</i>	Glomerellaceae	Glomerellales	Sordariomycetes
4	<i>Colletotrichum incanum</i>	<i>Colletotrichum</i>	Glomerellaceae	Glomerellales	Sordariomycetes
5	<i>Colletotrichum sojae</i>	<i>Colletotrichum</i>	Glomerellaceae	Glomerellales	Sordariomycetes
6	<i>Colletotrichum truncatum</i>	<i>Colletotrichum</i>	Glomerellaceae	Glomerellales	Sordariomycetes
7	<i>Diaporthe caulivora</i>	<i>Diaporthe</i>	Diaporthaceae	Diaporthales	Sordariomycetes
8	<i>Epicoccum nigrum</i>	<i>Epicoccum</i>	Didymellaceae	Pleosporales	Dothideomycetes
9	<i>Fusarium equiseti</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
10	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
11	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
12	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
13	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
14	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Fusarium</i>	Nectriaceae	Hydrobiales	Sordariomycetes
15	<i>Phoma</i> sp.	<i>Phoma</i>	Didymellaceae	Pleosporales	Dothideomycetes
16	<i>Phomopsis longicolla</i>	<i>Phomopsis</i>	Diaporthaceae	Diaporthales	Sordariomycetes
17	<i>Verticillium albo-atrum</i>	<i>Verticillium</i>	Plectosphaerellaceae	Glomerellales	Incertae sedis

камеры. После появления на зараженных участках спороношения споры с мицелием переносили на питательные среды – КГА (картофельно-глюкозный агар) и СА (carrot agar) – для выделения чистых культур возбудителей. В результате пересевов было выделено 50 изолятов грибов. Наблюдения за развитием колоний выполнялись в течение 30 дней с учетом характеристик образующихся морфологических структур.

Первичная идентификация возбудителей проводилась с помощью культурально-морфологического анализа с применением методов световой микроскопии и морфометрии. Подтверждающая идентификация осуществлялась классической полимеразной цепной реакцией (ПЦР) с использованием универсальных праймеров ITS5/ITS4 (White et al., 1990) и дальнейшего секвенирования полученных нуклеотидных последовательностей.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате исследований культурально-морфологическим методом было идентифицировано 14 возбудителей до вида и 3 возбудителя до рода (см. табл. 1).

Пять возбудителей были выделены одновременно из листьев и стеблей, остальные возбудители были локализованы либо в листьях, либо в стеблях (см. табл. 2).

Среди выделенных и идентифицированных патогенов самыми вредоносными и экономически значимыми являются представители родов *Colletotrichum* и *Diaporthe*, вызывающие антракноз, рак стеблей и бобов сои.

**Культурально-морфологические особенности возбудителей антракноза сои рода *Colletotrichum***

Антракноз сои поражает все надземные органы. Весной из зараженных семян появляются всходы, на семядолях которых образуются вдавленные

transferred to nutrient media – PDA (potato dextrose agar) and CA (carrot agar) – to isolate pure cultures of pathogens. As a result of subcultures, 50 fungal isolates were isolated. Observations of the colonies development were carried out over 30 days, taking into account the characteristics of the resulting morphological structures.

Primary pathogen identification was carried out by cultural and morphological analysis using light microscopy and morphometry methods. Confirmatory identification was conducted by classical polymerase chain reaction (PCR) using universal primers ITS5/ITS4 (White et al., 1990) and further sequencing of the resulting nucleotide sequences.

**RESULTS AND DISCUSSION**

As a result of research using the cultural and morphological method, 14 pathogens were identified to species and 3 pathogens to genus (see Table 1).

Five pathogens were isolated simultaneously from leaves and stems, the remaining pathogens were localized either in leaves or stems (see Table 2).

Among the isolated and identified pathogens, the most harmful and economically significant are representatives of the genera *Colletotrichum* and *Diaporthe*, causing anthracnose, soybean stems and beans canker.

**Cultural and morphological characteristics of soybean anthracnose pathogens of the genus *Colletotrichum***

Soybean anthracnose affects all above-ground organs. In spring, seedlings emerge from infected seeds, on the cotyledons of which depressed brown ulcers form. Sick plants are stunted, have weak branches and form a very weak root system. During the bean filling

бурые язвы. Больные растения отстают в росте, слабо ветвятся и образуют очень слабую корневую систему. В фазу налива бобов листья буреют и засыхают. На бобах вначале образуются небольшие пятна с бурым ободком, пятна со временем углубляются, сливаются, и створки бобов разрушаются. Инфекция переходит на семена. Семена в бобах больных растений образуются щуплые и мелкие, при сильном поражении они загнивают и покрываются грязновато-серым мицелием, на котором видны темные ацервулы со щетинками. Массовому развитию заболевания способствуют высокая относительная влажность воздуха и частые дожди. Заболевание передается семенами и сохраняется в пожнивных остатках.

До некоторых пор возбудитель антракноза сои четко ассоциировался с видом *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore (син.: *Colletotrichum glycines* Hori ex Hemmi). В настоящее время антракноз сои рассматривается как заболевание с более сложной, а порой и запутанной этиологией, но *C. truncatum* по-прежнему считается наиболее распространенным, ассоциированным видом для данного заболевания (Sharma et al., 2011; Dias et al., 2018). В разные годы из разных регионов поступала информация о других возбудителях антракноза сои, таких как *C. destructivum* (Manandhar et al., 1986), *C. coccodes* (Riccioni et al., 1998), *C. chlorophyti* (Yang et al., 2013), *C. gloeosporioides* (Mahmodi et al., 2013), *C. incanum* (Yang et al., 2014), *C. plurivorum* (Barbieri et al., 2017), *C. sojae* (Damm et al., 2019), *C. musicola* (Bouffleur et al., 2020) и *C. brevisporum* (Shi et al., 2021). Эти виды, в зависимости от места распространения, могут поодиночке или в различном сочетании встречаться на растениях сои, образуя при этом патологические комплексы. Одновременное появление на растениях сои нескольких видов *Colletotrichum*, связанных с антракнозом, способно влиять на характер протекания заболевания, поскольку эти виды могут по-разному реагировать на разные стратегии борьбы с заболеванием. Поэтому точная видовая идентификация возбудителя имеет важное значение для контроля и профилактики антракноза сои.

В нашем исследовании на одном растении сои было одновременно обнаружено 3 возбудителя антракноза – *C. incanum*, *C. sojae* и *C. truncatum*. Посеянные на 2%-й КГА и морковный агар, они образовывали характерные для рода *Colletotrichum* колонии, имеющие видовые различия между собой. Так, *C. truncatum* на морковном агаре образовывал округлые, иногда с волнистыми краями, плоские, слегка приподнятые колонии светлых тонов с концентрическими темными включениями в виде штрихов, иногда слабо закрученными в спираль. Характерной особенностью зрелых культур является равномерная разбросанность темных, щетинистых ацервул и стром по всей поверхности колонии (см. рис. 1).

Колонии *C. incanum* имели более воздушную, плотную структуру, вначале светло-серые, впоследствии серые и темно-серые, с округлым мягко очерченным краем и выраженным центром, с четкими концентрическими кругами и светлым ободком по краю. На зрелых культурах *C. incanum*, в отличие от *C. truncatum*, темные ацервулы

phase, the leaves turn brown and dry out. Small spots with a brown rim initially form on the beans; over time, the spots deepen, merge, and the bean flaps are destroyed. The infection spreads to the seeds. The seeds in the beans of diseased plants are puny and small; with severe damage, they rot and become covered with dirty-gray mycelium, on which dark acervuli with setae are visible. The massive disease development is facilitated by high relative humidity and frequent rains. The disease is transmitted by seeds and persists in crop residues.

Until recently, the soybean anthracnose pathogen was clearly associated with the species *Colletotrichum truncatum* (Schwein.) Andrus & W.D. Moore (syn.: *Colletotrichum glycines* Hori ex Hemmi). Currently, soybean anthracnose is considered a disease with a more complex and sometimes confusing etiology, though *C. truncatum* is still considered the most common associated species for this disease (Sharma et al., 2011; Dias et al., 2018). Over the years, information has been received from different regions about other soybean anthracnose pathogens, such as *C. destructivum* (Manandhar et al., 1986), *C. coccodes* (Riccioni et al., 1998), *C. chlorophyti* (Yang et al., 2013), *C. gloeosporioides* (Mahmodi et al., 2013), *C. incanum* (Yang et al., 2014), *C. plurivorum* (Barbieri et al., 2017), *C. sojae* (Damm et al., 2019), *C. musicola* (Bouffleur et al., 2020) and *C. brevisporum* (Shi et al., 2021). Depending on the distribution, these species can occur singly or in various combinations on soybean plants, forming pathological complexes. Simultaneous appearance

**Табл. 2. Части растений, из которых были выделены патогены**

**Table 2. Parts of plants from which pathogens were isolated**

№ Вид Species	Листья Leaves	Стебли Stems
1 <i>Alternaria alternata</i>	+	+
2 <i>Cercospora</i> sp.	+	–
3 <i>Colletotrichum</i> sp.	+	–
4 <i>Colletotrichum incanum</i>	+	+
5 <i>Colletotrichum sojae</i>	+	+
6 <i>Colletotrichum truncatum</i>	+	–
7 <i>Diaporthe caulivora</i>	–	+
8 <i>Epicoccum nigrum</i>	+	–
9 <i>Fusarium equiseti</i>	+	–
10 <i>Fusarium graminearum</i>	+	–
11 <i>Fusarium oxysporum</i>	+	+
12 <i>Fusarium proliferatum</i>	+	–
13 <i>Fusarium tricinctum</i>	+	+
14 <i>Fusarium verticillioides</i>	+	–
15 <i>Phoma</i> sp.	+	–
16 <i>Phomopsis longicolla</i>	–	+
17 <i>Verticillium albo-atrum</i>	+	–

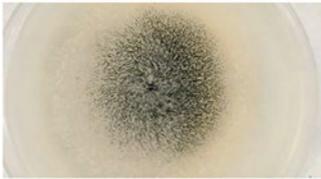
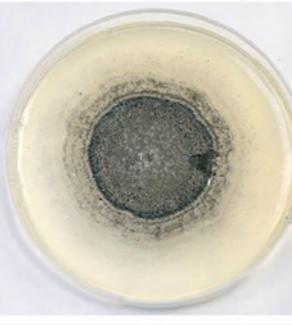
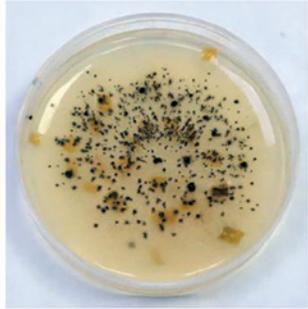
	Морковный агар СА	КГА PDA	
<i>Colletotrichum truncatum</i>			
	20 дн.	7 дн.	20 дн.
<i>Colletotrichum incanum</i>			
	20 дн.	7 дн.	20 дн.
<i>Colletotrichum sojae</i>			
	20 дн.	7 дн.	20 дн.

Рис. 1. Характер развития колоний возбудителей антракноза сои (фото авторов)

Fig. 1. Soybean anthracnose pathogens colonies development (photos by the authors)

не разбросаны, а неплотно собраны в центре (особенно это заметно на морковном агаре). Среда вокруг колонии непрозрачна из-за светло-молочной пигментации (см. рис. 1).

Возбудитель *C. sojae* на морковной среде образовывал погруженные в агар колонии без очерченных краев и выраженного центра, желтовато-белесых оттенков, с четко выделяющимися черными ацервулами и стромами на светлом фоне. Спороносные структуры начинают формироваться в центре колонии в виде концентрических черных колец. Развивающийся мицелий белый, пушистый, покрывает среду в виде снежных комочков и окрашивает ее в слегка розоватый цвет. На среде КГА зрелые колонии имели более насыщенную гамму – вначале светло-розовые с темным ободком выраженного центра и светлыми округлыми краями, впоследствии с концентрическими полями розового, серого, оливкового и светло-серого оттенков, со светлым ободком по краю колонии. Ацервулы не разбросаны, а сконцентрированы в центре. Пигментация среды серовато-молочная (см. рис. 1).

Особенности формирования культур различных антракнозных изолятов на питательных средах (СА и КГА) с характерным для них формирующимся спороношением показаны на рис. 1.

of several *Colletotrichum* species associated with anthracnose on soybean plants may influence the disease course, since these species may respond differently to different disease control strategies. Therefore, accurate species identification of the pathogen is essential for the control and prevention of soybean anthracnose.

In our study, 3 anthracnose pathogens were simultaneously detected on one soybean plant – *C. incanum*, *C. sojae* and *C. truncatum*. Sown on 2% PDA and CA, they formed colonies characteristic of the genus *Colletotrichum*, with species differences among themselves. Thus, *C. truncatum* on CA formed round, sometimes with wavy edges, flat, slightly raised colonies of light colors with concentric dark inclusions in the form of streaks sometimes weakly twisted into a spiral. A characteristic feature of mature cultures is the uniform distribution of dark, bristly acervuli and stroma over the entire surface of the colony (see Fig. 1).

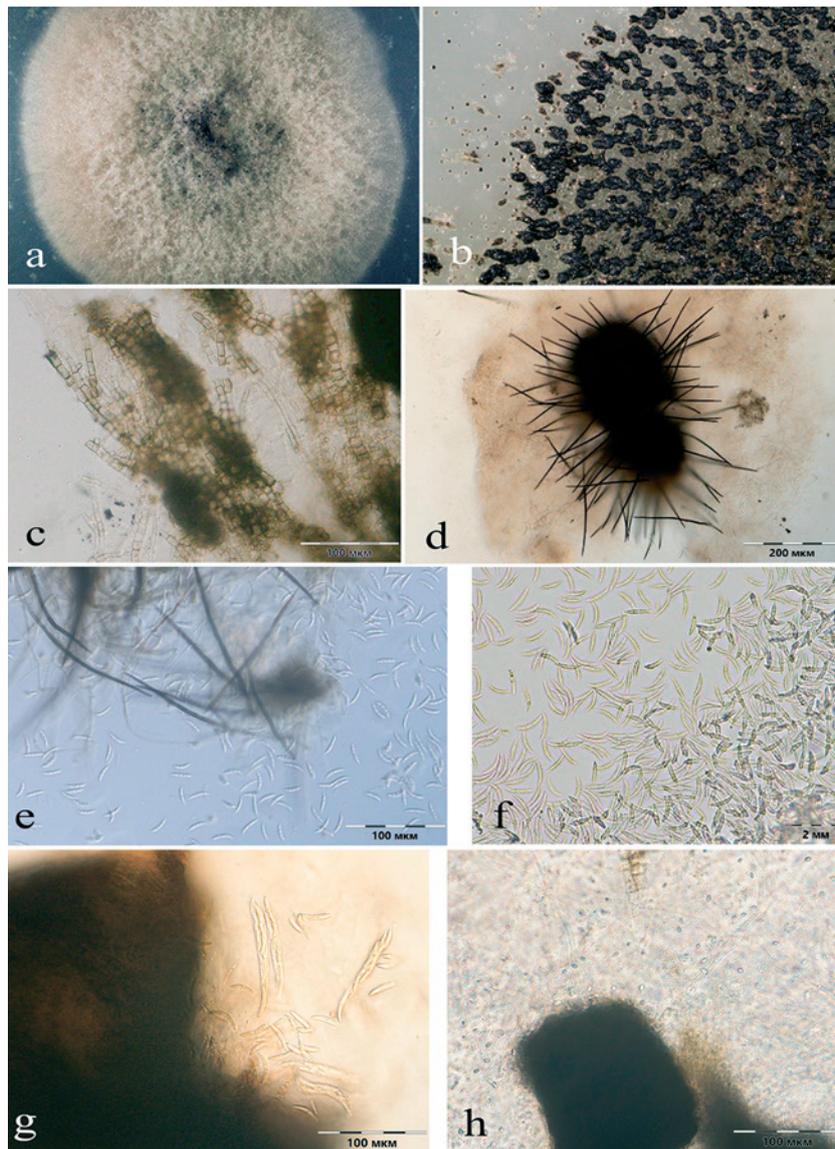
*C. incanum* colonies had a more airy, dense structure, at first light gray, later gray and dark gray, with

Колонии *C. truncatum* на 3–4-й день развития формировали заметные темные тяжи мицелия, образующие стромы (см. рис. 2с). В дальнейшем, на 5–6-й день, на верхней стороне уже потемневшего мицелия начинал образовываться светлый воздушный мицелий, на котором формировались темные ацервулы. На этом этапе развитие колонии может пойти двумя путями – с плотным и обильным воздушным мицелием (см. рис. 2а) или без него, но с характерно разбросанными стромами (см. рис. 2b). На 5–8-й день на ацервулах начинают развиваться щетинки, характерные для этого вида (см. рис. 2d). На морковном агаре до появления щетинок было отмечено появление округлых образований небольшого размера, внешне напоминающих микроконидии и выходящих из формирующихся ацервул (см. рис. 2h). Щетинки по размеру и высоте растут неравномерно, их длина составляет 80–205 мкм. Вместе со щетинками на ацервулах появляются споры размером 20,8–23,4 x 3,3–5,2. Споры одноклеточные, бесцветные, серповидные, с заостренными, слегка заovalенными концами и каплей масла в середине (см. рис. 2e, 2f). Позже в колонии могут сформироваться перитеции с сумкоспорами (см. рис. 2g).

Процесс развития колоний *C. incanum* примерно такой же, как и у *C. truncatum*, хотя и менее динамичный – колонии растут медленно. На 6-й день на участках темно-бурого и светло-серого оттенков мицелия (см. рис. 3b) начинают формироваться воздушный белый мицелий и темные стромы, на которых формируются ацервулы. Образующиеся стромы имеют более округлую форму (см. рис. 3е).

Щетинки на ацервулах несколько короче, чем у *C. truncatum*, – 30–140 мкм в длину, но могут и совсем отсутствовать (см. рис. 3с, 3d). Конидии образуются по мере формирования щетинок, размер конидий – 19,8–26,1 x 2,7–4,5 мкм. Споры *C. incanum* одноклеточные, гиалиновые, ладьеобразные, изогнуты в меньшей степени, чем у *C. truncatum*, с заостренными краями, один конец конидии может быть несколько вытянутым (см. рис. 3f). Наличия перитециев отмечено не было.

Морфологические структуры *C. sojae* отличаются от двух предыдущих видов. Субстратный мицелий септированный, с розоватым оттенком, что придает окрашенность всей колонии, гифы иногда сростаются, образуя тяжи (см. рис. 4а, 4b). Ацервулы округлые (см. рис. 4с), в основной массе не имеют щетинок, но иногда щетинки попадают, как бы спрятанные

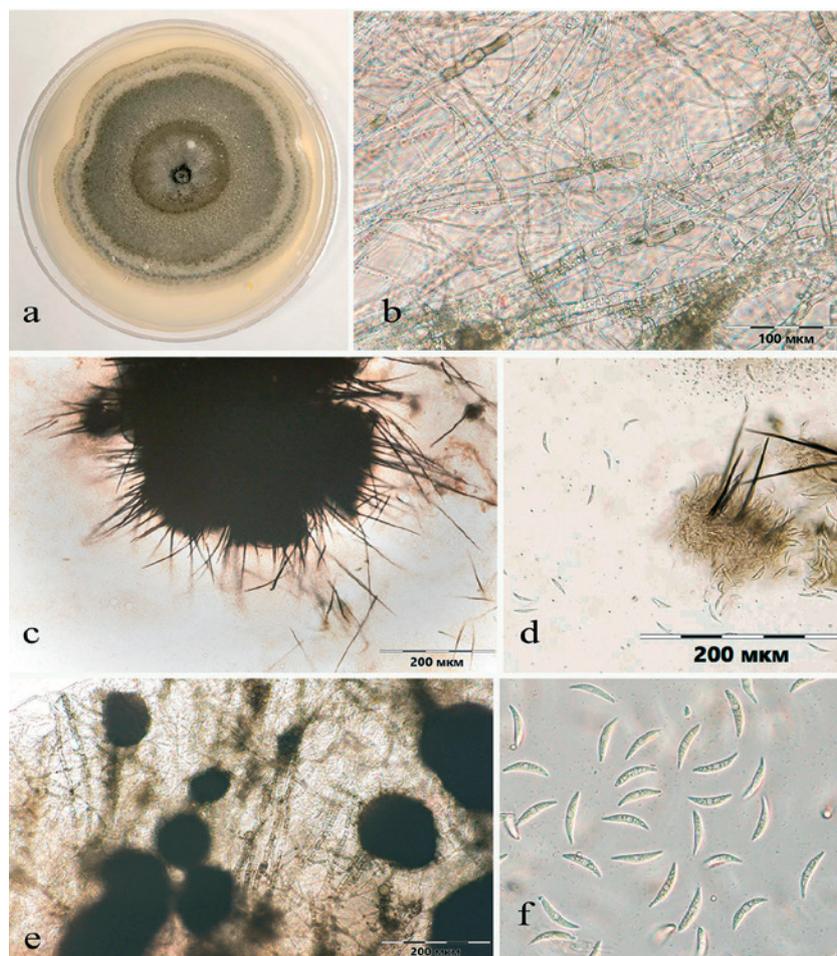


**Рис. 2.** Типичные структуры *Colletotrichum truncatum*: а – колония *C. truncatum* с воздушным мицелием; б – колония *C. truncatum* без воздушного мицелия, с разбросанными стромами; в – мицелиальные тяжи; д – ацервула со щетинками; е, ф – конидии; г – выход из перитеция сумок с сумкоспорами; h – образования, напоминающие микроконидии (фото авторов)

**Fig. 2.** *Colletotrichum truncatum* typical structures: а – *C. truncatum* colony with aerial mycelium; б – *C. truncatum* colony without aerial mycelium, with dispersed stroma; в – rhizomorphs; д – acervulus with setae; е, ф – conidia; г – exit from the perithecia of bursae with ascospores; h – formations resembling microconidia (photos by the authors)

a rounded, softly outlined edge and a pronounced center, with clear concentric circles and a light rim along the edge. Unlike *C. truncatum*, dark acervuli are not scattered, but loosely collected in the center on mature *C. incanum* cultures (especially noticeable on CA). The medium around the colony is opaque due to light milky pigmentation (see Fig. 1).

The *C. sojae* pathogen on carrot medium formed colonies immersed in agar without defined edges and a pronounced center, yellowish-whitish in color, with clearly visible black acervuli and stroma on a light background. Spore-bearing structures begin to form



**Рис. 3. Типичные структуры *C. incanum*:**  
 а – 20-дневная колония *C. incanum*. КГА;  
 б – участки бурого мицелия;  
 с, d – ацервула со щетинками  
 и конидиоспорами; е – округлые стромы  
*C. incanum*; ф – конидии (фото авторов)

**Fig. 3. *C. incanum* typical structures:**  
 а – *C. incanum* 20-day colony, PDA;  
 б – areas of brown mycelium;  
 с, d – acervula with setae and  
 conidiospores; е – *C. incanum* round  
 stroma; ф – conidia (photos by the authors)

внутри (см. рис. 4е). Споры одноклеточные, прямые, с закругленными концами и включениями масла внутри, размеры – 8,93–12,55 x 2,58–4,32 мкм (см. рис. 4f), образуют спорочулки (см. рис. 4g). Перитеции одиночные, шаровидные, погруженные в субстрат, цвет – от бледно-желто-коричневого до коричневого, 96–140 мкм в диаметре (см. рис. 4с, 4d, 4h). Перитеции созревают практически одновременно с ацервулами. Сумки с сумкоспорами, через разрыв в перидии, выходят наружу, смешиваясь с конидиями, поэтому и сумки, и сумкоспоры, и конидии можно видеть одновременно. Сумки 8-споровые, веретеновидные, 78–80 x 11–11,4 мкм (см. рис. 4h). Сумкоспоры гиалиновые, веретеновидные, изогнутые, с закругленными концами, 16–22 x 3,5–4,2 мкм (см. рис. 4и), по своей форме и параметрам сходны с конидиями *C. incanum*.

Макроскопический вид типичного расположения ацервул в воздушном мицелии для возбудителей антракноза из рода *Colletotrichum* показан на рис. 5.

**Культурально-морфологические особенности возбудителей рака бобов и стеблей сои рода *Diaporthe***

Заболевание фомопсис, или рак бобов и стеблей, объединяет в себе несколько возбудителей,

in the center of the colony in the form of concentric black rings. The developing mycelium is white, fluffy, covers the medium in the form of snowballs and colors it slightly pinkish. On the PDA medium, mature colonies had a more saturated range – initially light pink with a dark rim of a pronounced center and light rounded edges, later with concentric fields of pink, gray, olive and light gray shades, with a light rim along the edge of the colony. The acervuli are not scattered, but concentrated in the center. Pigmentation of the medium is grayish-milky (see Fig. 1).

Various anthracnose isolates culture formation features on nutrient media (CA and PDA) with their characteristic sporulation are shown in Fig. 1.

*C. truncatum* colonies on days 3–4 of development formed noticeable dark strands of mycelium forming stromas (see Fig. 2c). Subsequently, light aerial mycelium began to form on the upper side of the already darkened mycelium on days 5–6, where dark acervuli were formed. At this stage, the colony development can develop in two ways – with dense and abundant aerial mycelium (see Fig. 2a) or without it, but with characteristically scattered stroma (see Fig. 2b). On days 5–8, the acervuli begin to develop the setae characteristic of this species (see Fig. 2d). On CA, before the appearance of setae, small round formations were noted, externally resembling microconidia and emerging from the developing acervuli (see Fig. 2h). The setae grow unevenly in size and height, their length is 80–205 μm. Along with the setae, spores measuring 20.8–23.4 x 3.3–5.2 appear on the acervuli. The spores are single-celled, colorless, sickle-shaped, with pointed, slightly oval ends and a drop of oil in the middle (see Fig. 2e, 2f). Later, perithecia with ascospores may form in the colony (see Fig. 2g).

The *C. incanum* colonies development process is approximately the same as that of *C. truncatum*, although less dynamic – the colonies grow slowly. On the 6<sup>th</sup> day, in areas of dark brown and light gray shades of mycelium (see Fig. 3b), aerial white mycelium and dark stroma begin to form, on which acervuli form. The resulting stromas have a more rounded shape (see Fig. 3e). The setae on the acervuli are somewhat shorter than those of *C. truncatum* – 30–140 μm in length, but may be completely absent (see Fig. 3c, 3d). Conidia are formed as the setae form; the size of conidia is 19.8–26.1 x 2.7–4.5 μm. *C. incanum* spores of are unicellular, hyaline, boat-shaped, less curved than

образующих комплекс *Diaporthe/Phomopsis* (*Diaporthe/Phomopsis* Complex (DPC)). Одним из них является *Diaporthe caulivora* (Athow & Caldwell) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips (син.: *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwell). Возбудитель поражает растения в середине лета или позднее. Вначале на стеблях и ветвях, преимущественно около черешков, появляются красноватые или серовато-коричневые посередине и красновато-коричневые по краям участки. Постепенно стебли оказываются опоясанными слегка вдавленными полосами красновато-коричневого, бурого или шоколадного

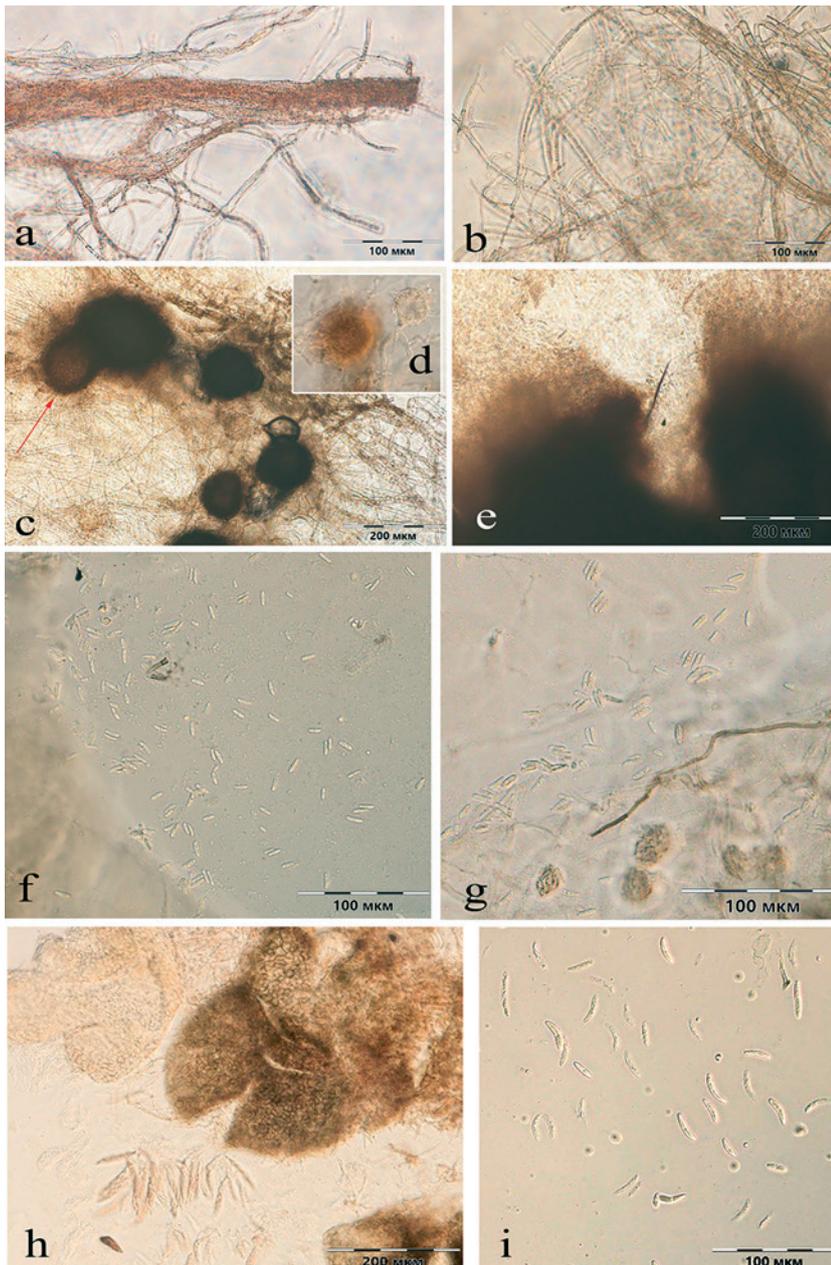
those of *C. truncatum*, with pointed edges; one end of the conidium may be somewhat elongated (see Fig. 3f). The presence of perithecia was not noted.

The *C. sojae* morphological structures differ from the previous two species. The substrate mycelium is septate, with a pinkish hue, which gives color to the entire colony; hyphae sometimes grow together to form strands (see Fig. 4a, 4b). The acervuli are round (see Fig. 4c), mostly without setae, but sometimes setae are found, as if hidden inside (see Fig. 4f). The spores are single-celled, straight, with rounded ends and oil inclusions inside, dimensions 8.93–12.55 x 2.58–4.32 μm (see Fig. 4f), forming spore clusters (see Fig. 4g). Perithecia are solitary, spherical, embedded in the substrate, pale yellow-brown to brown in color, 96–140 μm in diameter (see Fig. 4c, 4d, 4h). The perithecia mature almost simultaneously with the acervuli. Asci with ascospores, through a gap in the peridium, come out, mixing with conidia, so asci, ascospores, and conidia are visible simultaneously. Asci are 8-spored, fusiform, 78–80 x 11–11.4 μm (see Fig. 4h). Ascospores are hyaline, fusiform, curved, with rounded ends, 16–22 x 3.5–4.2 μm (see Fig. 4i), similar in shape and parameters to conidia of *C. incanum*.

A macroscopic view of the acervuli typical arrangement in aerial mycelium for anthracnose pathogens from the genus *Colletotrichum* is shown in Fig. 5.

**Cultural and morphological characteristics of soy beans and stems canker pathogen of the genus *Diaporthe***

Phomopsis disease, or beans and stems canker, combines several pathogens that form a complex *Diaporthe/Phomopsis* (*Diaporthe/Phomopsis* Complex (DPC)). One of them is *Diaporthe caulivora* (Athow & Caldwell) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips (syn.: *Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora* Athow & Caldwell). The pathogen infects plants in mid-summer or later. Initially, reddish or grayish-brown areas in the middle and reddish-brown areas along the edges appear on the stems and branches, mainly near the petioles. Gradually, the stems become surrounded by slightly depressed stripes of reddish-brown, brown or chocolate color. As a result of the disease, individual branches and entire plants dry out along with the leaves, but



**Рис. 4.** Типичные структуры *C. sojae*: a, b – сросшиеся гифы мицелия *C. sojae*; c – ацервулы (стрелочка указывает на формирующийся более светлый перитеций); d – формирующийся перитеций; e – щетинка с выходящими спорами; f – споры *C. sojae*; g – в нижней части рисунка видны сформировавшиеся спорокучки; h – сумки, выходящие из перитеция; i – сумкоспоры (фото авторов)

**Fig. 4.** *C. sojae* typical structures: a, b – *C. sojae* fused mycelium hyphae; c – acervuli (the arrow indicates the developing lighter perithecia); d – developing perithecia; e – seta with spores emerging; f – *C. sojae* spores; g – formed spore clusters are visible in the lower part of the picture; h – asci emerging from the perithecia; i – ascospores (photos by the authors)

цвета. В результате заболевания вместе с листьями усыхают отдельные ветви и целые растения, при этом засохшие листья не опадают (Болезни растений, 1956). Иногда гриб на ранней стадии развития может образовывать пикниды с выходящими из них в каплях экссудата пикноспорами. Со временем пикниды усыхают и исчезают (Mena et al., 2020). В полевых условиях на отмерших стеблях в течение зимы развиваются плодовые тела – перитеции. Сформировавшиеся в них аскоспоры являются основным источником инфекции для распространения гриба в следующем году.

Возбудитель *Diaporthe longicolla* (Hobbs) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips (анаморфа – *Phomopsis longicolla* Hobbs) вызывает гниль семян сои. Заражение растений происходит в начале вегетации и может вызывать гибель всходов. Погибшие всходы выглядят обожженными. На листьях взрослых пораженных растений между жилками образуются хлоротичные пятна, которые позднее буреют. Листья скручиваются, отмирают, но не опадают. На стеблях проявляются красновато-коричневые эллипсоидные пятнистости с вдавленными язвами, со временем на поверхности пятна развиваются пикниды гриба. Возбудитель первоначально развивается в нижней части стебля, но постепенно достигает бобов, проникает в семена и заражает их. Пораженные *P. longicolla* семена сморщенные, удлиненные, с треснутой оболочкой, во влажных условиях покрываются беловатым мицелием, на котором образуются черные пикниды гриба. Заражение семян может протекать бессимптомно, но такие семена, имея нормальный вид, обладают пониженной всхожестью, жизнеспособностью и качеством.

К числу возбудителей рака сои относится и *Diaporthe sojae* Lehman (син.: *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Lehman) Wehm.), вызывающий пятнистость бобов и стеблей. Заболевание проявляется в период начала созревания бобов. В это время на стеблях образуются линейные черные полосы из мелких точек, представляющих собой зрелые пикниды. На бобах пикниды появляются раньше, чем на стеблях. Источником инфекции в первую очередь являются пораженные стебли.

В нашем исследовании возбудитель рака сои *D. caulivora*, посеянный на среду КГА, вначале образовывал белый, прижатый к поверхности агара мицелий. Впоследствии мицелий становился более воздушным и пушистым, приобретал светло-кремовый, желтоватый оттенок и формировал плотные тяжи, образующие подушкообразные стромы неправильной формы, от 2 до 10 мм в диаметре (см. рис. 8а), которые могут сливаться между собой и образовывать продолговатые темные зоны, что

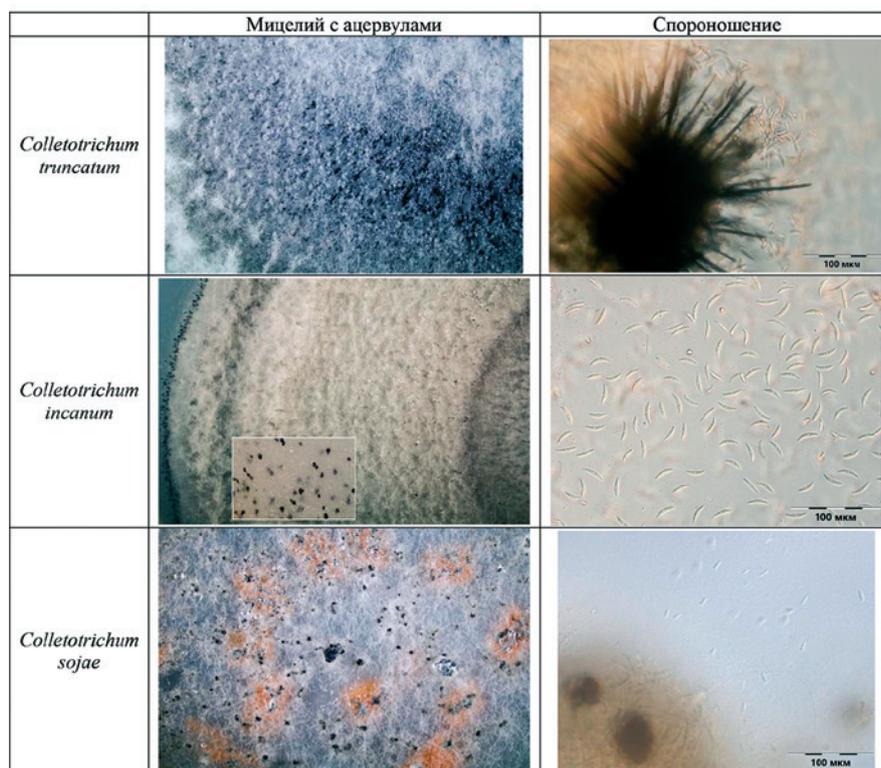


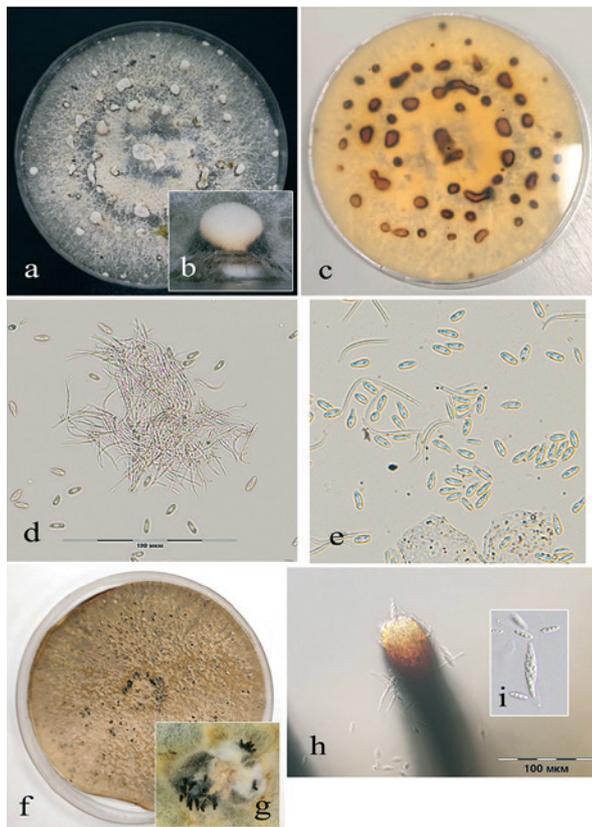
Рис. 5. Внешний вид сформированных на питательной среде ацервул со спороношением (фото авторов)

Fig. 5. Appearance of acervuli formed on a nutrient medium with sporulation (photos by the authors)

the dried leaves do not fall off (Plant diseases, 1956). Sometimes a fungus at an early development stage can form pycnidia with pycnosporae emerging from them in exudate droplets. Over time, the pycnidia shrink and disappear (Mena et al., 2020). In field conditions, fruiting bodies – perithecia – develop on dead stems during the winter. The ascospores formed in them are the main source of infection for the spread of the fungus next year.

The pathogen *Diaporthe longicolla* (Hobbs) J.M. Santos, Vrandečić & A.J.L. Phillips (anamorph – *Phomopsis longicolla* Hobbs) causes soybean seeds rot. Plant infection occurs at the beginning of the growing season and can cause the seedlings death. Dead seedlings look burned. On the leaves of adult infected plants, chlorotic spots are formed between the veins, which later turn brown. The leaves curl and die, without falling off. Reddish-brown ellipsoidal spots with depressed cankers appear on the stems; over time, fungal pycnidia develop on the spots surface. The pathogen initially develops in the lower part of the stem, though gradually reaches the beans, penetrates the seeds and infects them. Seeds affected by *P. longicolla* are wrinkled, elongated, with a cracked shell; in humid conditions, they are covered with whitish mycelium, on which black fungal pycnidia are formed. Seeds infection can be asymptomatic, but such seeds, while having a normal appearance, have reduced germination, viability and quality.

The soybean canker pathogens also include *Diaporthe sojae* Lehman (syn.: *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* (Lehman) Wehm.), causing spotting of beans and

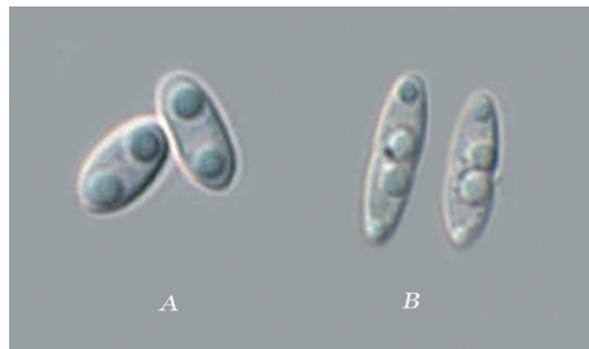


**Рис. 6.** *Diaporthe caulivora*: a – 20-дневная колония *D. caulivora*; b – пикнида с экссудатом; c – обратная сторона колонии; d – β-конидии *D. caulivora*; e – α-конидии; f – 30-дневная колония *D. caulivora*; g – перитеции с носиками; h – сумка с сумкоспорами, выходящая из носика перитеция; i – сумка с сумкоспорами (фото авторов)

**Fig. 6.** *Diaporthe caulivora*: a – *D. caulivora* 20-day colony; b – pycnidia with exudate; c – reverse side of the colony; d – *D. caulivora* β-conidia; e – α-conidia; f – *D. caulivora* 30-day colony; g – perithecia with spouts; h – asci with ascospores emerging from the perithecia spout; i – ascus with ascospores (photos by the authors)

хорошо заметно на нижней стороне колонии (см. рис. 6с). На 5–6-й день изоляты в своем росте достигали края чашки Петри.

В цикле развития *D. caulivora* основным инфекционным агентом являются вышедшие из перитециев аскоспоры, и, по сообщениям зарубежных авторов, возбудитель крайне редко образует конидиальное спороношение как в природе, так и на питательной среде в лабораторных условиях (Santos et al., 2011). Если в культуре и образуются пикниды, то они, как правило, стерильны или содержат небольшое количество β-спор (Fernández, Hanlin, 1996). Однако на культуре выделенного нами дальневосточного изолята на 10–12-й день сформировались шаровидные, слегка вытянутые пикниды черного цвета, 192–210 мкм в диаметре, с капельками экссудата (см. рис. 6b), в котором были обнаружены α-конидии и β-конидии. α-конидии гиалиновые, неразделенные, с двумя капельками масла по краям споры, эллипсоидной и каплевидной формы, размером 6,02–7,68 x 2,22–3,57 мкм (см. рис. 6е). β-конидии гиалиновые, нитевидные, со слегка заостренными и заваленными концами, от прямых до изогнутых и крючкообразных, размером 15,2–28,1 x 1,4 x 1,8 мкм



**Рис. 7.** α-конидии (А) и аскоспоры (В) *D. caulivora* (фото авторов)

**Fig. 7.** α-conidia (A) and ascospores (B) *D. caulivora* (photo by the authors)

stems. The disease appears when beans begin to ripen. At this time, linear black stripes of small dots form on the stems, representing mature pycnidia. Pycnidia appear on beans earlier than on stems. The source of infection is primarily the affected stems.

In our study, the soybean canker pathogen *D. caulivora*, sown on PDA medium, initially formed white mycelium pressed to the agar surface. Subsequently, the mycelium became more fluffy, acquired a light cream, yellowish tint and formed dense cords forming cushion-shaped stroma of irregular shape, from 2 to 10 mm in diameter (see Fig. 8a), which can merge with each other and form oblong dark zone, which is clearly visible on the underside of the colony (see Fig. 6c). On the 5<sup>th</sup>–6<sup>th</sup> day, the isolates in their growth reached the edge of the Petri dish.

In the development cycle of *D. caulivora*, the main infectious agent is ascospores emerging from the perithecia, and, according to foreign authors, the pathogen extremely rarely forms conidial sporulation both in nature and on a nutrient medium in the laboratory (Santos et al., 2011). If pycnidia are formed in culture, they are usually sterile or contain a small number of β-spores (Fernández and Hanlin, 1996). However, on days 10–12, on the culture of the Far Eastern isolate we obtained, there were formed spherical, slightly elongated black pycnidia, 192–210 μm in diameter, with droplets of exudate (see Fig. 6b), in which α-conidia and β-conidia were found. α-conidia are hyaline, undivided, with two droplets of oil at the edges of the spore, ellipsoidal and teardrop-shaped, measuring 6.02–7.68 x 2.22–3.57 μm (see Fig. 6e). β-conidia are hyaline, filamentous, with slightly pointed and oval ends, from straight to curved and hook-shaped, measuring 15.2–28.1 x 1.4 x 1.8 μm (see Fig. 6d). After 28 days of incubation under normal conditions, submerged, spherical black perithecia, 180–280 μm in diameter, with elongated spouts of different lengths began to form on the medium (see Fig. 6g). The asci are fusiform, measuring 28.6–34.6 x 6.2–9.0 μm, and contained 8 ellipsoidal ascospores. The ascospores are translucent, with oil droplets in the center, measuring 8.3–10.0 x 1.8–2.4 μm (see Fig. 6i). Compared to α-spores, ascospores are somewhat larger, more elongated and have a constriction in the middle (see Fig. 7).

(см. рис. 6d). Через 28 дней инкубации в обычных условиях на среде стали образовываться погруженные, шаровидные перитеции черного цвета, размером 180–280 мкм в диаметре, с вытянутыми носиками разной длины (см. рис. 6g). Аски веретенообразные, размером 28,6–34,6 x 6,2–9,0 мкм, содержали 8 аскоспор эллипсоидной формы. Аскоспоры полупрозрачные, с капельками масла в центре, размером 8,3–10,0 x 1,8–2,4 мкм (см. рис. 6i). По сравнению с α-спорами аскоспоры несколько больше, более вытянуты и имеют перетяжку посередине (см. рис. 7).

Второй возбудитель рака сои – *D. phaseolorum* Sacc. var. *sojae*, вызывающий пятнистость бобов и стеблей, при проведении исследования обнаружен не был.

На картофельно-глюкозном агаре возбудитель гнили семян сои *D. longicolla* образовывал плотные колонии белого цвета, хлопьевидно-опушенные, на которых после 10-дневного развития стали появляться охристые, желтовато-зеленые участки. После 20-го дня развития в колонии стали образовываться крупные, черные, распростертые, подушкообразные стромы, содержащие одиночные или скученные пикниды (240–500 мкм), с выступающими удлинненными носиками, что является характерным признаком для этого вида. Некоторые пикниды выделяли молочно-розово-желтый экссудат, содержащий α-конидии, β-конидии отсутствовали. α-конидии эллипсоидные, одноклеточные, бесцветные, размером 5,4–8,2 x 1,7–3,0 мкм (см. рис. 8).

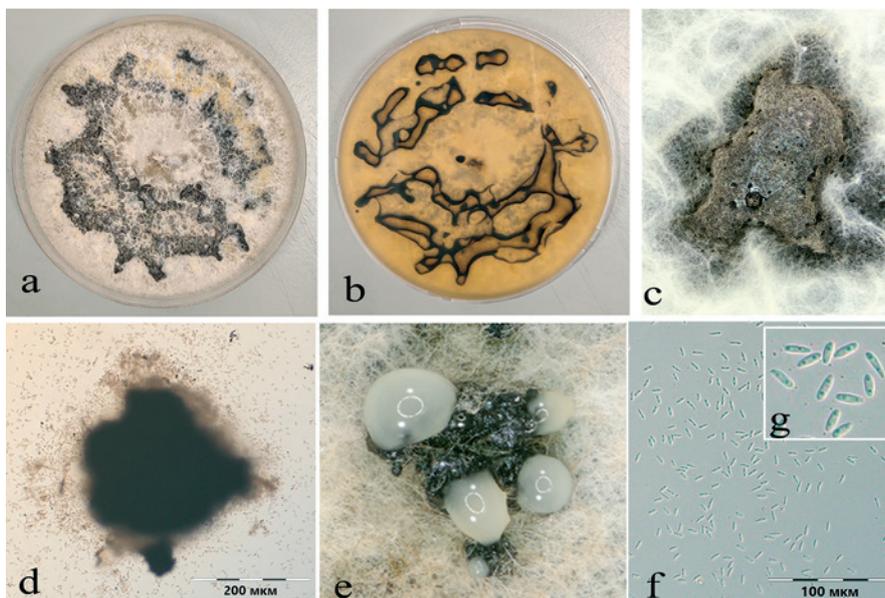
**Другие виды патогенов, выделенные при обследовании сои**

Присутствие других патогенов на растительных образцах было обусловлено в первую очередь несоблюдением севооборота, повышенной влажностью и неблагоприятными погодными условиями. Нами были выявлены возбудители фузариоза, альтернариоза, вертициллеза и точечной пятнистости (*Epicoccum*) (см. рис. 9).

Вид *Alternaria alternata*, как представитель многочисленного рода альтернариозных грибов, формировал темно-серо-коричневую концентрическую колонию, с включением различных по цвету клинообразных зон в начале роста и слоем воздушного хлопьевидного мицелия поверх сформированной колонии в последующее время.

*Epicoccum nigrum* отличался от остальных возбудителей яркой по цвету лимонно-оранжевой колонией плотно-войлочной консистенции и бордово-коричневым реверзумом.

Различные виды обнаруженных возбудителей фузариозов в нашем исследовании образовывали характерные для грибов рода *Fusarium* пушистые,



**Рис. 8. *D. longicolla*:**  
 a – 14-дневная колония *D. longicolla*;  
 b – обратная сторона колонии;  
 c – строма; d – пикнида; e – носики пикнид с выделяющимся экссудатом со спорами;  
 f–g – α-конидии (фото авторов)

**Fig. 8. *D. longicolla*:**  
 a – *D. longicolla* 14-day colony;  
 b – reverse side of the colony; c – stroma;  
 d – pycnidia; e – spouts of pycnidia with exudate containing spores; f–g – α-conidia (photos by the authors)

Second soybean canker pathogen – *D. phaseolorum* Sacc. var. *sojae*, causing spotting of beans and stems, was not detected during the study.

On PDA, the soybean seed rot pathogen, *D. longicolla*, formed dense colonies of white, flaky-pubescent, on which, after 10 days of development, ochre, yellowish-green areas began to appear. After the 20<sup>th</sup> day of development, large, black, prostrate, cushion-shaped stromas began to form in the colony, containing single or crowded pycnidia (240–500 μm), with protruding elongated spouts, which is a characteristic feature of this species. Some pycnidia secreted a milky pink-yellow exudate containing α-conidia; β-conidia were absent. α-conidia are ellipsoidal, unicellular, colorless, 5.4–8.2 x 1.7–3.0 μm in size (see Fig. 8).

**Other pathogens identified in soybean surveys**

The presence of other pathogens on plant samples was primarily due to poor crop rotation, high humidity and unfavorable weather conditions. We identified pathogens of fusarium, alternaria, verticillium and leaf spot disease (*Epicoccum*) (see Fig. 9).

*Alternaria alternata* species as a representative of a numerous *Alternaria* genus, formed a dark gray-brown concentric colony, with the inclusion of wedge-shaped zones of different colors at the beginning of growth and a layer of aerial flocculent mycelium on top of the formed colony subsequently.

*Epicoccum nigrum* differed from other pathogens by a bright lemon-orange colony with a dense felt consistency and a burgundy-brown reversum.

Various species of detected fusarium pathogens in our study formed fluffy, aerial colonies of pink,

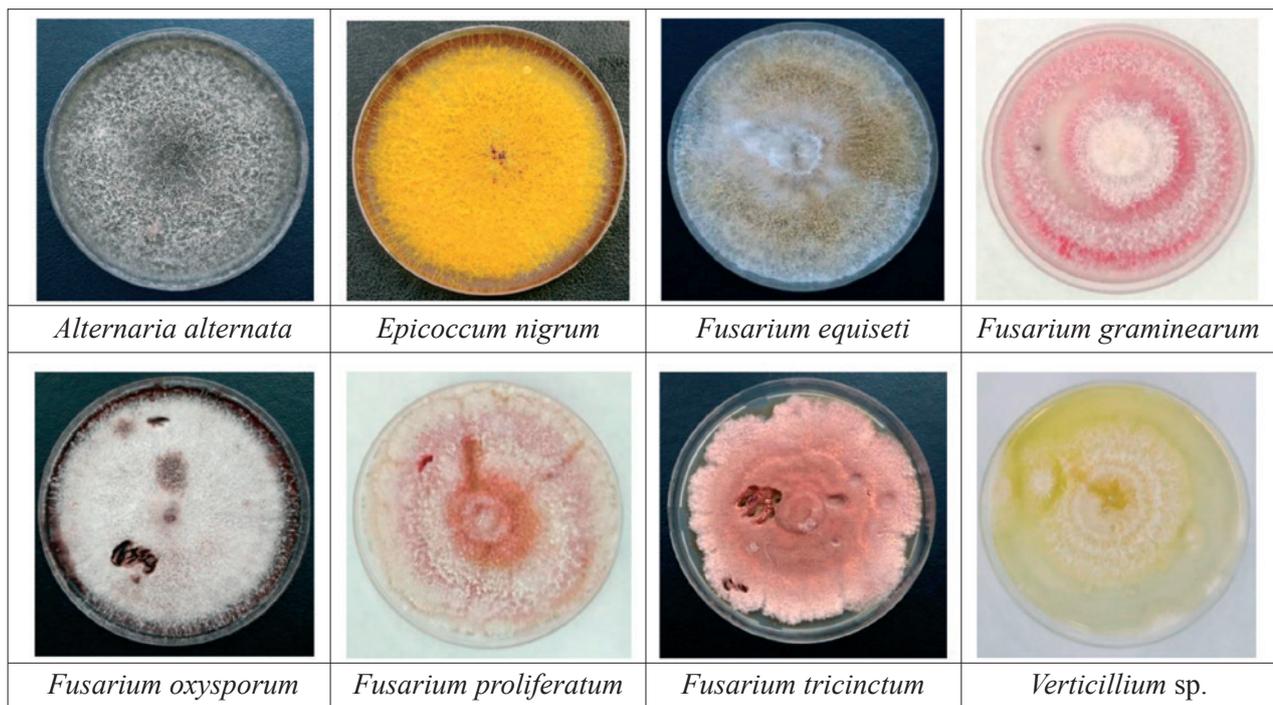


Рис. 9. Внешний вид колоний выявленных возбудителей (фото авторов) Fig. 9. Appearance of identified pathogens colonies (photos by the authors)

воздушные колонии розового, бежевого, желтого и других цветов с типичным для каждого выявленного вида споронием.

Возбудитель вертициллезного увядания *Verticillium albo-atrum* формировал медленно растущую, приподнятую концентрическую колонию с воздушным мицелием белого цвета.

В результате лабораторных исследований были выявлены грибные патогены, относящиеся к 14 видам, 9 родам, 7 семействам, 5 порядкам и 2 классам (см. табл. 1). Самыми многочисленными оказались представители рода *Fusarium* – 6 видов. Род *Colletotrichum* включил в себя 4 вида. Остальные 7 родов были представлены по 1 виду. Из порядков чаще всего встречался порядок Нуро-creales – 6 случаев. На порядок Glomerellales пришлось 5 случаев; порядок Pleosporales – 3 случая; порядок Diaporthales – 2 случая; порядок Capnodiales – 1 случай. Самым многочисленным оказался класс Sordariomycetes – 12 случаев, на класс Dothideomycetes пришлось 4 случая.

Культурально-морфологический метод исследования выделенных в процессе работы изолятов достаточно точно подтверждает их видовую идентификацию по основным морфологическим признакам, которые проиллюстрированы на фотографиях выше и достаточно подробно описаны. При этом наличие как  $\alpha$ -, так и  $\beta$ -спор изолята *D. caulivora* неоднократно проверялось в нашем исследовании.

Культурально-морфологическая идентификация выявленных изолятов подтверждалась также методом классической ПЦП с использованием универсальных праймеров ITS5/ITS4 (White et al., 1990) и последующим секвенированием полученных нуклеотидных последовательностей по внутреннему транскрибируемому спейсеру ITS рибосомальной ДНК с дальнейшим сравнением их с эталонными последовательностями в Генбанке NCBI.

beige, yellow and other colors characteristic of the genus *Fusarium* fungi with sporulation typical for each identified species.

The pathogen of verticillium wilt, *Verticillium albo-atrum*, formed a slow-growing, raised concentric colony with white aerial mycelium.

As a result of laboratory studies, fungal pathogens belonging to 14 species, 9 genera, 7 families, 5 orders and 2 classes were identified (see Table 1). The most numerous were representatives of the genus *Fusarium* – 6 species. The genus *Colletotrichum* included 4 species. The remaining 7 genera were represented by 1 species each. The order Hypocreales was the most common – 6 cases. The order Glomerellales accounted for 5 cases; order Pleosporales – 3 cases; order Diaporthales – 2 cases; order Capnodiales – 1 case. The class Sordariomycetes was the most numerous – 12 cases, the class Dothideomycetes accounted for 4 cases.

The cultural and morphological method of studying isolates isolated during the work quite accurately confirms their species identification based on the main morphological characteristics, which are illustrated in the photographs above and described in sufficient detail. Moreover, the presence of both  $\alpha$ - and  $\beta$ -spores of the *D. caulivora* isolate was repeatedly checked in our study.

The cultural and morphological identification of the isolates was also confirmed by classical PCR using universal primers ITS5/ITS4 (White et al., 1990) and subsequent sequencing of the obtained nucleotide sequences using the internal transcribed spacer ITS of ribosomal DNA with further comparison with reference sequences in the NCBI GenBank.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Видовой состав грибов, выделенных в нашем исследовании, включал в себя виды, которые обычно присутствуют на сое, и патогены, появление которых было обусловлено неблагоприятными погодными условиями и накоплением инфекции вследствие преобладания сои в севообороте, вплоть до монокультуры. Самые вредоносные и агрессивные из выделенных видов относятся к роду *Colletotrichum*. Исследования показали, что виды *C. incanum*, *C. sojiae* и *C. truncatum* присутствовали на растениях сои одновременно. Также на растениях сои были обнаружены такие опасные и экспортно значимые для России виды, как *D. caulivora* и *D. longicolla*. Вид *D. caulivora*, вызывающий рак стеблей и бобов сои, является карантинным видом для Китая, основного экспортера сои из России, и карантинным видом для Ирана. Возбудитель гниения семян *P. longicolla* также имеет карантинный статус в КНР. Карантинный для РФ вид *Cercospora kikuchii*, вызывающий пурпурный церкоспороз сои и получивший значительное распространение в регионе, в нашем исследовании обнаружен не был.

Применение культурально-морфологического метода при идентификации патогенов сои является традиционным. Несмотря на свою трудоемкость, этот метод позволяет более широко охватить и понять биологию проходящих процессов, визуальное оценить их многочисленные аспекты. Применяя данный метод, мы смогли обнаружить штамм *D. caulivora*, в цикле развития которого присутствует пикнидиальная стадия, что, судя по литературным источникам, случается крайне редко (Fernández, Hanlin, 1996). Более того, в образовавшихся пикнидах штамма были обнаружены одновременно  $\alpha$ - и  $\beta$ -споры возбудителя. Взятые из пикнид и посеянные на питательную среду  $\alpha$ - и  $\beta$ -споры образовали полноценные колонии *D. caulivora*, доказав свою жизнеспособность. Установление этого факта может повлиять на изменение традиционного представления о патогенезе заболевания.

Несмотря на свою универсальность, культурально-морфологический метод требует довольно продолжительного времени для получения полностью достоверного результата. В нашем исследовании такой период составил 28 дней. В случаях, когда не требуется раскрытие полной картины биологических процессов, а ожидаемый результат обнаружения комплекса *Diaporthe/Phomopsis* (DPC) сводится только к факту «присутствует/не присутствует», следует использовать молекулярные методы исследования. Такой подход позволит значительно сократить сроки проводимого анализа. Однако в случае видовой идентификации применение только классической ПЦР с дальнейшим секвенированием внутреннего транскрибируемого участка ITS1-5.8S-ITS2 недостаточно в силу того, что виды *D. caulivora* и *D. longicolla* по данному участку практически неразличимы.

Полученные результаты, в силу ограниченности территории обследованных участков, не позволяют сделать обобщающие выводы о наличии и частоте встречаемости тех или иных видов на плантациях сои в регионе, поэтому исследование по фитосанитарному состоянию посевов следует продолжить.

## CONCLUSION

The species composition of the fungi isolated in our study included species that are usually present on soybean, and pathogens whose emergence was due to adverse weather conditions and the accumulation of infection due to the predominance of soybean in the crop rotation, up to monoculture. The most harmful and aggressive of the identified species belong to the genus *Colletotrichum*. According to the research, the species *C. incanum*, *C. sojiae* and *C. truncatum* were present on soybean plants simultaneously. Also, such dangerous and export-important species for Russia as *D. caulivora* and *D. longicolla*. The species *D. caulivora*, causing soybean stems and beans canker, is a quarantine species for China, the main exporter of soybeans from Russia, and a quarantine species for Iran. Seed rot pathogen *P. longicolla* also has quarantine status in China. Quarantine for the Russian Federation, the species *Cercospora kikuchii*, which causes the *Cercospora* leaf blight and purple seed stain diseases, and which become widespread in the region, was not detected in our study.

The use of the cultural and morphological method in identifying soybean pathogens is traditional. Despite its labor-intensive nature, this method allows to more widely cover and understand the biology of ongoing processes and visually evaluate their numerous aspects. Using this method, we were able to detect a *D. caulivora* strain, in the development cycle of which there is a pycnidial stage, which, judging by the literature, happens extremely rarely (Fernández, Hanlin, 1996). Moreover,  $\alpha$ - and  $\beta$ -spores of the pathogen were simultaneously detected in the resulting strain pycnidia. The  $\alpha$ - and  $\beta$ -spores taken from pycnidia and sown on a nutrient medium formed full *D. caulivora* colonies, proving their viability. Establishing this fact may influence changes in the traditional understanding of the pathogenesis of the disease.

Despite its versatility, the cultural and morphological method requires quite a long time to obtain a completely reliable result. In our study, this period was 28 days. In cases where the full picture of biological processes is not required, and the expected result of detecting the *Diaporthe/Phomopsis* complex (DPC) is reduced only to the fact “present/not present”, molecular research methods should be used. This approach will significantly reduce the time required for analysis. However, in the case of species identification, the use of only classical PCR with further sequencing of the internal transcribed region ITS1-5.8S-ITS2 is not enough due to the fact that the species *D. caulivora* and *D. longicolla* in this region are practically indistinguishable.

The results obtained, due to the limited territory of the surveyed areas, do not allow us to draw general conclusions about the presence and occurrence frequency of certain species on soybean plantations in the region, therefore, research on the phytosanitary state of crops should be continued.

## REFERENCES

1. Plant diseases. Yearbook of the US Department of Agriculture. M.: Foreign literature, 1956, 241 pp.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Болезни растений. Ежегодник Министерства земледелия США. М.: Иностранная литература, 1956, 241 с.
2. Линников П.И. Российский рынок сои: тенденции, перспективы развития // Аграрный научный журнал. 2018. № 10. С. 81–86.
3. Barbieri M.C.G., Ciampi-Guillard M., Moraes S.R.G., Bonaldo S.M., Rogério F., Linhares R.R. et al. First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on soybean in Brazil // Plant Disease. 2017. Vol. 101. P. 1677.
4. Bouffleur T.R., Castro R.R.L., Rogério F., Ciampi-Guillard M., Baroncelli R. & Massola Júnior N.S. First report of *Colletotrichum musicola* causing soybean anthracnose in Brazil // Plant Disease. 2020. Vol. 104. P. 1858.
5. Damm U., Sato T., Alizadeh A., Groenewald J.Z. & Crous P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes // Studies in Mycology. 2019. Vol. 92. P. 1–46.
6. Dias M.D., Fonseca M.E.N., Dias-Neto J.J., Santos M.D.M., Pandolfo G.M., Boiteux L.S. et al. Biology, pathogenicity, and haplotype analyses of *Colletotrichum cliviae*: A novel soybean anthracnose agent in warm tropical areas // Tropical Plant Pathology. 2018. Vol. 43. P. 439–451.
7. Fernández F.A., Hanlin R.T. Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean // Mycologia. 1996. Vol. 88. P. 425–440.
8. Mahmodi F., Kadir J.B., Wong M.Y., Nasehi A., Puteh A. & Soleimani N. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on soybean (*Glycine max*) in Malaysia // Plant Disease. 2013. Vol. 97. P. 841.
9. Manandhar J.B., Hartman G.L. & Sinclair J.B. *Colletotrichum destructivum*, the anamorph of *Glomerella glycines* // Phytopathology. 1986. Vol. 76. P. 282–285.
10. Mena E., Stewart S., Montesano M., Ponce de León I. Soybean Stem Canker Caused by *Diaporthe caulivora*; Pathogen Diversity, Colonization Process, and Plant Defense Activation // Frontiers in Plant Science. Plant Pathogen Interactions. January 2020., Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01733>.
11. Riccioni L., Conca G. & Hartman G.L. First report of *Colletotrichum coccodes* on soybean in the United States // Plant Disease. 1998. Vol. 82. P. 959.
12. Santos J.M., Vrandečić K., Čosić J., Duvnjak T., Phillips A.J.L. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia // Persoonia. 2011. Vol. 27. P. 9–19. URL: <https://doi.org/10.3767/003158511X603719>.
13. Sharma S.K., Gupta G.K. & Ramteke R. *Colletotrichum truncatum* [(Schw.) Andrus and W.D. Moore], the causal agent of anthracnose of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] – a review // Soybean Research. 2011. Vol. 9. P. 31–52.
14. Shi X., Wang S., Duan X., Gao X., Zhu X. & Laborda P. First report of *Colletotrichum brevisporum* causing soybean anthracnose in China // Plant Disease. 2021. Vol. 105. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-20-1910-PDN>.
15. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W., Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A Guide to Methods and
2. Linnikov P.I. Russian soybean market: trends, development prospects [Rossiyskiy ryok soi: tendentsii, perspektivy razvitiya]// Agrarian scientific journal. 2018; 10: 81–86. (In Russ.)
3. Barbieri M.C.G., Ciampi-Guillard M., Moraes S.R.G., Bonaldo S.M., Rogério F., Linhares R.R. et al. First report of *Colletotrichum cliviae* causing anthracnose on soybean in Brazil // Plant Disease. 2017. Vol. 101. P. 1677.
4. Bouffleur T.R., Castro R.R.L., Rogério F., Ciampi-Guillard M., Baroncelli R. & Massola Júnior N.S. First report of *Colletotrichum musicola* causing soybean anthracnose in Brazil // Plant Disease. 2020. Vol. 104. P. 1858.
5. Damm U., Sato T., Alizadeh A., Groenewald J.Z. & Crous P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes // Studies in Mycology. 2019. Vol. 92. P. 1–46.
6. Dias M.D., Fonseca M.E.N., Dias-Neto J.J., Santos M.D.M., Pandolfo G.M., Boiteux L.S. et al. Biology, pathogenicity, and haplotype analyses of *Colletotrichum cliviae*: A novel soybean anthracnose agent in warm tropical areas // Tropical Plant Pathology. 2018. Vol. 43. P. 439–451.
7. Fernández F.A., Hanlin R.T. Morphological and RAPD analyses of *Diaporthe phaseolorum* from soybean // Mycologia. 1996. Vol. 88. P. 425–440.
8. Mahmodi F., Kadir J.B., Wong M.Y., Nasehi A., Puteh A. & Soleimani N. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on soybean (*Glycine max*) in Malaysia // Plant Disease. 2013. Vol. 97. P. 841.
9. Manandhar J.B., Hartman G.L. & Sinclair J.B. *Colletotrichum destructivum*, the anamorph of *Glomerella glycines* // Phytopathology. 1986. Vol. 76. P. 282–285.
10. Mena E., Stewart S., Montesano M., Ponce de León I. Soybean Stem Canker Caused by *Diaporthe caulivora*; Pathogen Diversity, Colonization Process, and Plant Defense Activation // Frontiers in Plant Science. Plant Pathogen Interactions. January 2020., Vol. 10. URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01733>.
11. Riccioni L., Conca G. & Hartman G.L. First report of *Colletotrichum coccodes* on soybean in the United States // Plant Disease. 1998. Vol. 82. P. 959.
12. Santos J.M., Vrandečić K., Čosić J., Duvnjak T., Phillips A.J.L. Resolving the *Diaporthe* species occurring on soybean in Croatia // Persoonia. 2011. Vol. 27. P. 9–19. URL: <https://doi.org/10.3767/003158511X603719>.
13. Sharma S.K., Gupta G.K. & Ramteke R. *Colletotrichum truncatum* [(Schw.) Andrus and W.D. Moore], the causal agent of anthracnose of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] – a review // Soybean Research. 2011. Vol. 9. P. 31–52.
14. Shi X., Wang S., Duan X., Gao X., Zhu X. & Laborda P. First report of *Colletotrichum brevisporum* causing soybean anthracnose in China // Plant Disease. 2021. Vol. 105. URL: <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-20-1910-PDN>.
15. White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W., Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. PCR Protocols: A Guide to Methods and

Applications. 18 // San Diego, CA, USA, Academic Press, 1990, p. 315–322.

16. Yang H.-C., Stewart J.M. & Hartman G.L. First report of *Colletotrichum chlorophyti* infecting soybean seed in Arkansas, United States // Plant Disease. 2013. Vol. 97. P. 1510.

17. Yang H.-C., Haudenshield J.S. & Hartman G.L. *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA // Mycologia. 2014. Vol. 106. P. 32–42.

18. Рынок сои в 2022 году: тенденции и прогнозы [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://agrovesti.net/lib/industries/beans/rynok-soi-v-2022-godu-tendentsii-i-prognozy.html> (дата обращения: 24.07.2023).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

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

**Кузнецова Анна Александровна**, старший научный сотрудник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0001-8443-2641*, *SPIN-код: 7583-3409*, *e-mail: kyyznec@bk.ru*.

**Дудченко Геннадий Николаевич**, агроном редакционно-издательского отдела ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: dudchenko\_gennadiy@vniikr.ru*.

**Копина Мария Борисовна**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, начальник научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-1613-1764*, *SPIN-код: 3257-7483*, *e-mail: Kopinamaria645@gmail.com*.

**Костин Никита Константинович**, кандидат сельскохозяйственных наук, агроном научно-методического отдела микологии и гельминтологии ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *ORCID 0009-0003-8066-0753*, *SPIN-код: 5183-3265*, *e-mail: kostinwork1@gmail.com*.

Applications. 18 // San Diego, CA, USA, Academic Press, 1990, p. 315–322.

16. Yang H.-C., Stewart J.M. & Hartman G.L. First report of *Colletotrichum chlorophyti* infecting soybean seed in Arkansas, United States // Plant Disease. 2013. Vol. 97. P. 1510.

17. Yang H.-C., Haudenshield J.S. & Hartman G.L. *Colletotrichum incanum* sp. nov., a curved-conidial species causing soybean anthracnose in USA // Mycologia. 2014. Vol. 106. P. 32–42.

18. Soybean market in 2022: trends and forecasts [Electronic resource]. Access mode: <https://agrovesti.net/lib/industries/beans/rynok-soi-v-2022-godu-tendentsii-i-prognozy.html> (last accessed: 24.07.2023).

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Irina Dudchenko**, Senior Researcher, Mycology and Helminthology Research and Methodology Department, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0003-0169-414X*, *e-mail: dudchenko\_irina@vniikr.ru*.

**Anna Kuznetsova**, Senior Researcher, Mycology and Helminthology Research and Methodology Department, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0001-8443-2641*, *SPIN-code: 7583-3409*, *e-mail: kyyznec@bk.ru*.

**Gennady Dudchenko**, Agronomist, Editorial and Publishing Department, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: dudchenko\_gennadiy@vniikr.ru*.

**Maria Kopina**, PhD in Agriculture, Leading Researcher, Head of Mycology and Helminthology Research and Methodology Department, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-1613-1764*, *SPIN-code: 3257-7483*, *e-mail: Kopinamaria645@gmail.com*.

**Nikita Kostin**, Agronomist, Mycology and Helminthology Research and Methodology Department, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0009-0003-8066-0753*, *SPIN-code: 5183-3265*, *e-mail: kostinwork1@gmail.com*.

# Изучение устойчивости сортов гороха к возбудителю бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

\* ИГНАТЬЕВА И.М.<sup>1</sup>, БАКАЕВА А.С.<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150  
<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru  
<sup>2</sup> e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com

## АННОТАЦИЯ

Возбудитель бактериального ожога гороха является основным фитопатогеном гороха посевного и распространяется через семенной материал. В ряде стран, включая страны – импортеры гороха из России, возбудитель *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, вызывающий бактериоз некоторых зернобобовых культур, включен в карантинные перечни. Внедрение методов выявления и идентификации возбудителя болезни и поиск резистентных сортов стали актуальными в стратегии сохранения уровня экспорта гороха из России. С этой целью в ходе проведенной работы выбраны и проверены сорта гороха на устойчивость к фитопатогену. Для исследования был произведен посев пяти сортов гороха. После того как произошло прорастание в фазе 2–3 листьев, по 10 растений каждого сорта инокулировали бактериальной суспензией в концентрации 10<sup>6</sup> КОЕ/мл. Одно растение оставляли в качестве отрицательного контрольного образца, используя для инокуляции стерильную дистиллированную воду. В процессе развития проростков выполнялось сравнение зараженных растений с контрольным образцом, проводилась регистрация проявления симптомов заболевания. На 22-й день после заражения отобраны образцы вегетативных частей растений и провели контроль наличия клеток патогена, используя ПЦР-анализ с праймерами AN7F/AN7R. Согласно полученным результатам ПЦР-анализа, во всех пробах растений (в том числе и бессимптомных) подтверждено наличие специфического для возбудителя бактериального ожога гороха продукта амплификации размером 272 пары оснований (п. о.). В результате исследования выявлена восприимчивость сортов гороха к бактериозу у сортов гороха Варяг, Алтайский усатый, Астронавт. В ходе исследования установлено, что наиболее подходящим кандидатом для селекции сорта, резистентного к *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, стал сорт Амброзия. Также подтверждена необходимость оценки развития симптомов заражения фитопатогеном в совокупности с молекулярно-генетическими методами выявления ДНК бактерии в растительных клетках для

# Study of pea cultivars resistance to pea bacterial blight *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*

\* IRINA M. IGNATIEVA<sup>1</sup>, ALEKSANDRA S. BAKAEVA<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup> Federal State Budgetary Institution “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNIIKR”), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150  
<sup>1</sup> ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: babiraignirmi@ya.ru  
<sup>2</sup> e-mail: asyaasya.asya214@gmail.com

## ABSTRACT

Bacterial blight of pea is a main pea phytopathogen and is spread through seeds. In some countries, including those importing peas from Russia, *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* causing bacteriosis of some leguminous crops is included in quarantine lists. Introducing detection and identification methods of the pathogen and determining resistant cultivars have become important in strategies for maintaining the level of pea exports from Russia. For this purpose, during this work, pea cultivars were selected and tested for their resistance to the phytopathogen. Five pea cultivars were planted for research. After germination occurred in the 2–3 leaf phase, 10 plants of each cultivar were inoculated with a bacterial suspension at a concentration of 10<sup>6</sup> CFU/ml. One plant was left as a negative control using sterile distilled water for inoculation. During the development of seedlings, infected plants were compared with a control sample, and the manifestation of disease symptoms was recorded. On the 22<sup>nd</sup> day after inoculation, samples of vegetative parts of the plants were taken and the presence of pathogen cells was monitored using PCR with primers AN7F/AN7R. According to the PCR results, in all plant samples (including asymptomatic ones), the presence of an amplification product with a size of 272 base pairs specific to the bacterial blight of peas pathogen was confirmed. As a result of the study, the susceptibility of pea cultivars to bacteriosis was revealed in the pea cultivars of Varyag, Altaisky Usatiy, Astronavt. The study determined that the most suitable cultivar for breeding, resistant to *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, was Ambrosia. The necessity of evaluating the development of phytopathogen infection symptoms together with molecular genetic methods for identifying bacterial DNA in plant

подтверждения резистентности сорта к бактериальному ожогу гороха.

**Ключевые слова.** Амплификация, инокуляция, ПЦР, резистентность, экспорт, фитопатогенная бактерия.

## ВВЕДЕНИЕ



*Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. – широко распространенный в РФ патоген гороха посевного (*Pisum sativum* L.), вызывает бактериальный ожог растений и передается через семена, ветром, дождевой водой, вредителями и при культивации посевов сельскохозяйственным оборудованием (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Изученное ранее влияние патогена на снижение урожайности зараженных растений гороха показало, что потери составляют от 24 до 47% (Roberts et al., 1996).

Зараженные растительные остатки гороха служат источником сохранения фитопатогена в поле в зимний период (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Зараженные бактерией семена гороха являются важным способом распространения и сохранения фитопатогена (Alfered, 2005; Grondeau et al., 1993; Grondeau et al., 1996; Lawyer, Chun, 2001).

Распространяясь с посевным материалом, зараженным фитопатогеном в латентном состоянии, бактериоз значительно расширил свой ареал за последние годы. В регионе Евразийского экономического союза (ЕАЭС) отмечены неоднократные выявления фитопатогена в подкарантинном материале, импортированном из других стран (Сирия, Венгрия, Италия) (Игнатьева и др., 2021; CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). Бактериальный ожог гороха – угроза стабильному производству продовольственной сельскохозяйственной культуры, значимой во всем мире.

Фитопатоген включен в перечни карантинных объектов ряда стран – импортеров гороха из РФ (Бангладеш, Иран, Китай, Пакистан, Сирия, Турция) (АБ Центр, 2021; ФГБУ «Центр Агроаналитики», 2022; Benlioglu et al., 2010; EPPO Global Database; EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI); CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). По результатам анализа данных о распространении возбудителя бактериального ожога в Ленинградской, Московской, Ярославской, Кировской, Воронежской, Курской, Ростовской, Самарской областях, в Краснодарском, Алтайском и Красноярском краях, в Республике Алтай, в Республике Тыва экспортный потенциал регионов может быть ограничен (Лазарев и др., 2015; Лазарев и др., 2017).

cells to confirm the resistance of a cultivar to pea bacterial blight was also confirmed.

**Key words.** Amplification, inoculation, PCR, resistance, export, phytopathogenic bacterium.

## INTRODUCTION



*Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. is a widely spread in the Russian Federation pea pathogen (*Pisum sativum* L.), causing bacterial blight and transmitted through seeds, with wind, rain water, pests and agricultural equipment when cultivating crops (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). The previously studied effect of the pathogen on reducing the yield of infected pea plants showed that losses range from 24 to 47% (Roberts et al., 1996).

Infected pea plant remains serve as a source of persistence of the phytopathogen in the field during the winter period (Benlioglu et al., 2010; Hollaway, Bretag, 1995; Hollaway, Bretag, 1997; Hollaway et al., 2007; Masuda, Nishiyama, 2001). Bacteria-infected pea seeds are an important way of spreading and maintaining the phytopathogen (Alfered, 2005; Grondeau et al., 1993; Grondeau et al., 1996; Lawyer, Chun, 2001).

Spreading with seeds infected with a latent phytopathogen, bacteriosis has significantly expanded its range in recent years. In the region of the Eurasian Economic Union (EAEU), repeated phytopathogen detections were noted in regulated material imported from other countries (Syria, Hungary, Italy) (Ignatieva et al., 2021; CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). Bacterial blight of pea is a threat to the sustainable production of the globally important food crop.

The phytopathogen is included in the quarantine pest lists of some countries importing peas from the Russian Federation (Bangladesh, Iran, China, Pakistan, Syria, Turkey) (AB Center, 2021; Federal State Budgetary Institution “Agroanalytics Center”, 2022; Benlioglu et al., 2010; EPPO Global Database; EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI); CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight), 2022). According to the results of the data analysis on the spread of bacterial blight of pea pathogen in Leningrad Oblast, Moscow Oblast, Yaroslavl Oblast, Kirov Oblast, Voronezh Oblast, Kursk Oblast, Rostov Oblast, Samara Oblast, in Krasnodar Krai, Altai Krai and Krasnoyarsk Krai, in the Altai Republic, in the Tyva Republic, the export potential of the regions may be limited (Lazarev et al., 2015; Lazarev et al., 2017).

В настоящее время нет эффективных химических средств защиты вегетирующих растений или обеззараживания семян. Уровень зараженности семян гороха данным патогеном, выше которого заболевание начинает распространяться, составляет всего 0,02%, поэтому использование здорового посевного материала является важным аспектом стратегии борьбы с распространением бактериоза (ISHI-Veg, 2020a; ISHI-Veg, 2020b; Grondeau et al., 1996; Roberts, 1992; Roberts et al., 1996). Важную роль в системе борьбы с данной бактерией играет проведение посева только здоровыми (без скрытой бактериальной инфекции) и качественными (полноценными, крупными, выровненными) семенами апробированных сортов, характеризующихся высокой устойчивостью или толерантностью к заболеванию (Лазарев и др., 2015).

Хотя иммунных к опасным патогенам и фитофагам сортов гороха пока не существует, выращивание устойчивых и толерантных к вредителям и болезням сортов, приспособленных к местным почвенно-климатическим условиям, позволяет снизить применение химических средств защиты и сохранить полезную биоту в агроценозах (Зотиков, 2015). Целью исследования стало изучение устойчивости среднеспелых сортов гороха к патогену. В дальнейшем результаты этой работы могут быть использованы в качестве альтернативной стратегии борьбы с фитопатогеном.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Список официально зарегистрированных сортов гороха (Государственный реестр селекционных достижений, 2021), отобранных для изучения устойчивости к *P. syringae* pv. *pisi*, приведен в табл. 1.

Семена гороха были получены от оригинаторов сортов и предварительно были протестированы на зараженность фитопатогенами в ходе контрольного высева в провокационных условиях (данные не приведены). Семена гороха предварительно замачивали в дистиллированной воде в течение суток, после чего проводили посев. Каждое семя помещали в отдельную ячейку кассеты для рассады емкостью 90 мл, в качестве грунта использовали готовую смесь из верхового и низинного торфа, речного песка, известняковой доломитовой муки и нитроаммофосфата в качестве комплексного удобрения. Грунт также был предварительно протестирован на отсутствие фитопатогенов, вредителей и токсичных веществ путем пробного посева тест-культуры салата.

На протяжении всего опыта растения находились в постоянных условиях: продолжительность освещения – 16 ч, температура – 25–27 °С, относительная влажность воздуха – 55–70%.

Заражение растений проводили в фазе 2–3 настоящих листьев 24-часовой культурой штамма CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi*, выращенной на питательном агаре Кинга Б (Методические рекомендации, 2022) при 28 °С. Для заражения каждого растения использовали 10 мкл бактериальной суспензии в концентрации 10<sup>6</sup> КОЕ/мл (Игнатьева и др., 2021; ОФС.1.7.2.0008.15, 2018). Метод заражения заключался в несквозном прокалывании основания листа и нанесении с помощью дозатора капли суспензии на место прокола (Martín-Sanz et al.,

Currently, there are no effective chemical means of protecting vegetative plants or disinfecting seeds. The level of pea seeds contamination with this pathogen, above which the disease begins to spread, is only 0.02%, so the use of healthy seed material is an important aspect of the strategy to control the bacteriosis spreading (ISHI-Veg, 2020a; ISHI-Veg, 2020b; Grondeau et al., 1996; Roberts, 1992; Roberts et al., 1996). An important role in the system of controlling this bacterium is played by sowing only healthy (without hidden bacterial infection) and high-quality (full-fledged, large, aligned) seeds of proven cultivars, characterized by high resistance or tolerance to the disease (Lazarev et al., 2015).

Although there are no pea cultivars immune to dangerous pathogens and phytophages, the cultivation of resistant and tolerant cultivars to pests and diseases, adapted to local soil and climatic conditions, makes it possible to reduce the use of chemical protection means and preserve beneficial biota in agroecosystems (Zotikov, 2015). The purpose of the work was to study the resistance of mid-season pea cultivars to the pathogen. In the future, the results can be used as an alternative strategy for controlling the phytopathogen.

#### MATERIALS AND METHODS

The list of officially registered pea cultivars (State Register of Breeding Achievements, 2021), selected for studying resistance to *P. syringae* pv. *pisi*, is given in Table 1.

Pea seeds were obtained from the cultivar originators and were previously tested for infection by phytopathogens during control sowing under provocative conditions (data not shown). Pea seeds were pre-soaked in distilled water for 24 hours and then sown. Each seed was placed in a separate 90 ml seedling container cell; a ready-made mixture of high-moor and low-lying peat, river sand, limestone dolomite flour and nitroammophosphate as a complex fertilizer was used as soil. The soil was also pre-tested for the absence of phytopathogens, pests and toxic substances by test sowing of a lettuce test culture.

Throughout the experiment, the plants were kept under constant conditions: lighting duration – 16 hours, temperature – 25–27 °C, relative air humidity – 55–70%.

Plants were infected in the phase of 2–3 true leaves with a 24-hour culture of *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105, grown on King B nutrient agar (Guidelines, 2022) at 28 °C. To infect each plant, 10 µl of a bacterial suspension was used at a concentration of 10<sup>6</sup> CFU/ml (Ignatieva et al., 2021; OFS.1.7.2.0008.15, 2018). The infection method consisted of a blind piercing of the leaf base and applying a drop of suspension to the puncture using a dispenser (Martín-Sanz et al., 2012; Ignatieva et al., 2021; Ignatieva et al., 2022). Sterile distilled water was used as a negative control. Plants infected with *P. syringae* pv. *pisi* were spatially isolated from negative control plants. Observations of plants were carried out daily for 21 days from the moment

**Табл. 1. Сорты гороха, использованные в работе**

№ п/п	Сорт гороха	Код сорта	Год регистрации	Оригинатор	Характеристика сорта
1	Варяг	9703799	2001	ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Россия	среднеспелый, неосыпающийся, безлисточковый
2	Алтайский усатый	9154537	2012	ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Россия	среднеспелый, детерминантный, неосыпающийся, безлисточковый
3	Астронавт	8853989	2015	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Германия	среднеспелый, безлисточковый
4	Амброзия	9463673	2009	Научно-производственная фирма «Поиск», Россия	среднеспелый, сахарный, садово-огородный
5	Алтайский изумруд	9810093	2003	ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства», Россия	среднеспелый, консервный, для товарного производства

**Table 1. Pea cultivars used in this study**

№	Pea cultivar	Cultivar code	Record year	Originator	Cultivar characteristics
1	Varyag	9703799	2001	Federal State Budgetary Institution “Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies”, Russia	mid-season, non-shattering, leafless
2	Altaisky Usatiy	9154537	2012	Federal State Budgetary Institution “Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies”, Russia	mid-season, determinate, non-shattering, leafless
3	Astronavt	8853989	2015	Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Germany	mid-season, leafless
4	Ambrosia	9463673	2009	Research and production company “Poisk”, Russia	mid-season, sugar, garden
5	Altaisky izumrud	9810093	2003	Federal State Budgetary Institution “Federal Scientific Center for Vegetable Growing”, Russia	mid-season, can, for commercial production

2012; Игнатъева и др., 2021; Игнатъева и др., 2022). В качестве отрицательного контроля использовали стерильную дистиллированную воду. Растения, зараженные *P. syringae* pv. *pusi*, пространственно изолировали от растений отрицательного контроля. Наблюдения за растениями проводили ежедневно в течение 21 дня с момента их инокуляции суспензией возбудителя бактериоза.

Для подтверждения факта заражения проводили отбор и подготовку аналитических проб для ПЦР-анализа на 11-й день после инокуляции. Пробы брали от каждого из 10 зараженных растений и от растения, представляющего собой отрицательный контроль.

В случае появления типичных симптомов болезни для подтверждающего анализа отбирали с помощью скальпеля или ножниц фрагменты ткани, расположенные на стыке здорового и пораженного участка. При отсутствии симптомов отбор фрагментов проводили не менее чем из 10 разных участков образца (стебля, черешков листьев и центральных жилок). Для установления оптимальной массы навески брали аналитические пробы весом от 2,0 до 3,0 граммов и помещали в контейнер для сбора биологического материала с крышкой. К пробе добавляли от 30 до 45 мл фосфатного буфера. Мацерацию растительной ткани осуществляли на орбитальном шейкере при 200 об/мин в течение 40 мин. Полученный мацерат фильтровали через бумажный фильтр «Синяя лента» в центрифужную пробирку объемом 50 мл. Концентрацию фильтрата проводили путем центрифугирования в течение 10 мин при 10 000 об/мин при температуре от 4 до 10 °C (Ignatyeva et al., 2021). Супернатант осторожно удаляли, а осадок ресуспендировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера. Полученный

of their inoculation with a suspension of the bacteriosis pathogen.

To confirm the fact of infection, analytical samples were collected and prepared for PCR on the 11<sup>th</sup> day after inoculation. Samples were taken from each of the 10 infected plants and from a negative control plant.

If typical disease symptoms appeared, tissue fragments located at the junction of the healthy and affected areas were selected for confirmatory analysis using a scalpel or scissors. In the absence of symptoms, fragments were collected from at least 10 different parts of the sample (stem, leaf petioles, and central veins). To establish the optimal weight of the sample, analytical samples from 2.0 to 3.0 grams were taken and placed in a container for collecting biological material with a lid. From 30 to 45 ml of phosphate buffer was added to the sample. Maceration of plant tissue was carried out on an orbital shaker at 200 rpm for 40 minutes. The resulting macerate was filtered through a Blue Ribbon filter paper into a 50 ml centrifuge tube. The concentration of the filtrate was carried out by centrifugation for 10 min at 10,000 rpm at a temperature of 4 to 10 °C (Ignatyeva et al., 2021). The supernatant was carefully removed, and the pellet was resuspended in 1 ml of phosphate-buffered saline. The resulting plant extract was transferred into a sterile Eppendorf microtube with a volume of 2 ml (Methodological guidelines, 2022).

From each sample of the obtained plant extract and from a suspension of pure *P. syringae* pv. *pusi* culture



**Рис. 1.** Стадия развития гороха в момент заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото И.М. Игнатъевой)

**Fig. 1.** Stage of pea development at the time of *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105 infection: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatyy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by I.M. Ignatieva)

растительный экстракт переносили в стерильную микропробирку типа Eppendorf объемом 2 мл (Методические рекомендации, 2022).

От каждой пробы полученного растительного экстракта и от суспензии чистой культуры *P. syringae* pv. *pisi*, взятой в качестве внутреннего положительного контроля, отбирали по 200 мкл и использовали их для выделения ДНК с помощью набора «Проба-ГС» согласно инструкции производителя (ООО «АгроДиагностика», Россия). Выделенную ДНК доводили с помощью спектрофотометра NanoDrop ND-2000 (Thermo Fisher Scientific, США) до примерно равной концентрации (2–20 нг/мкл), оптимальной для проведения ПЦР (Игнатъева и др., 2022), и выполняли амплификацию со специфичными для *P. syringae* pv. *pisi* праймерами AN7F/AN7R (Arnold et al., 1997). В исследовании использовали олигонуклеотиды и ПЦР-буферы («5X ScreenMix-HS», синтезированные в ООО «Евроген» (Россия), или «5X Mas<sup>DD</sup>TaqMIX-2025», синтезированные в ЗАО «Диалат Лтд.» (Россия)), в соотношениях согласно оптимизированному протоколу, описанному ранее (Arnold et al., 2011; Martín-Sanz et al., 2011; Qing et al., 2016; Игнатъева, Словарева, 2021).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние растений гороха в фазе 2–3 листьев на момент заражения *P. syringae* pv. *pisi* представлено на рис. 1.

Первые симптомы заболевания были отмечены на 7-е сутки после заражения на сорте Варяг на нижних листьях в виде увядания. На 9-е сутки после заражения были отмечены симптомы заболевания на сортах Алтайский усатый и Алтайский изумруд в виде изменения окраски нижних листьев. На 11-е сутки после заражения симптомы заболевания были отмечены на сорте Астронавт на нижних листьях в виде увядания. На растениях гороха сорта Амброзия на эту дату внешних проявлений признаков болезни отмечено не было (см. рис. 2).

На растениях, инокулированных стерильной дистиллированной водой, отсутствовали признаки заболевания (см. рис. 3).

taken as an internal positive control, 200 µl were taken and used for DNA extraction using the Proba-GS kit according to the manufacturer’s instructions (AgroDiagnostics, Russia). The isolated DNA was adjusted using a NanoDrop ND-2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) to approximately equal concentration (2–20 ng/µl), optimal for PCR (Ignatieva et al., 2022), and amplification was carried out with specific for *S. syringae* pv. *pisi* primers AN7F/AN7R (Arnold et al., 1997). The study used oligonucleotides and PCR buffers (5X ScreenMix-HS, synthesized at Evrogen (Russia), or 5X Mas<sup>DD</sup>TaqMIX-2025, synthesized at Djalat Ltd. (Russia)), in proportions according to the optimized protocol described previously (Arnold et al., 2011; Martín-Sanz et al., 2011; Qing et al., 2016; Ignatieva, Slovareva, 2021).

### RESULTS AND DISCUSSION

The state of pea plants in the 2–3 leaf phase at the time of infection with *P. syringae* pv. *pisi* is presented in Fig. 1.

The first disease symptoms were noted on the 7<sup>th</sup> day after infection on the Varyag cultivar on the lower leaves in the form of wilting. On the 9<sup>th</sup> day after infection, disease symptoms were noted on the Altaisky Usatyy and Altaisky izumrud cultivars in the form of a color change of the lower leaves. On the 11<sup>th</sup> day after infection, disease symptoms were noted on the Astronavt cultivar on the lower leaves in the form of wilting. On the Ambrosia cultivar plants, no external disease symptoms were noted until now (see Fig. 2).

No disease symptoms were recorded on plants inoculated with sterile distilled water (see Fig. 3).

As a result of PCR with primers AN7F/AN7R for DNA samples isolated from inoculated plants, products with a length of 272 base pairs (bp) were obtained, which corresponded to the positive amplification control, for which was used *P. syringae* pv. *pisi*



**Рис. 2.** Симптомы на листьях гороха через 7–11 суток после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisii*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото А.С. Бакаевой)

**Fig. 2.** Symptoms on pea leaves after 7–11 days after infection with the *P. syringae* pv. *pisii* strain CFBP 2105: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usaty cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by A.S. Bakaeva)



**Рис. 3.** Контрольные растения гороха, инокулированные стерильной дистиллированной водой: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото И.М. Игнатьевой)

**Fig. 3.** Control pea plants inoculated with sterile distilled water: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usaty cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by I.M. Ignatieva)

В результате проведенной ПЦР с праймерами AN7F/AN7R для образцов ДНК, выделенных из инокулированных растений, получены продукты длиной 272 п. о., что соответствовало положительному контролю амплификации, в качестве которого использовали ДНК *P. syringae* pv. *pisii*. Для всех образцов и внутреннего положительного контроля в результате проведения ПЦР были получены продукты амплификации длиной 714 п. о. (см. рис. 4).

Полученные результаты ПЦР позволяют сделать вывод о том, что возбудитель бактериального ожога гороха через 11 суток после заражения присутствовал во всех сортах гороха, инокулированных бактериальной суспензией, несмотря на то, что растения сорта Амброзия не проявляли внешних признаков заражения фитопатогеном.

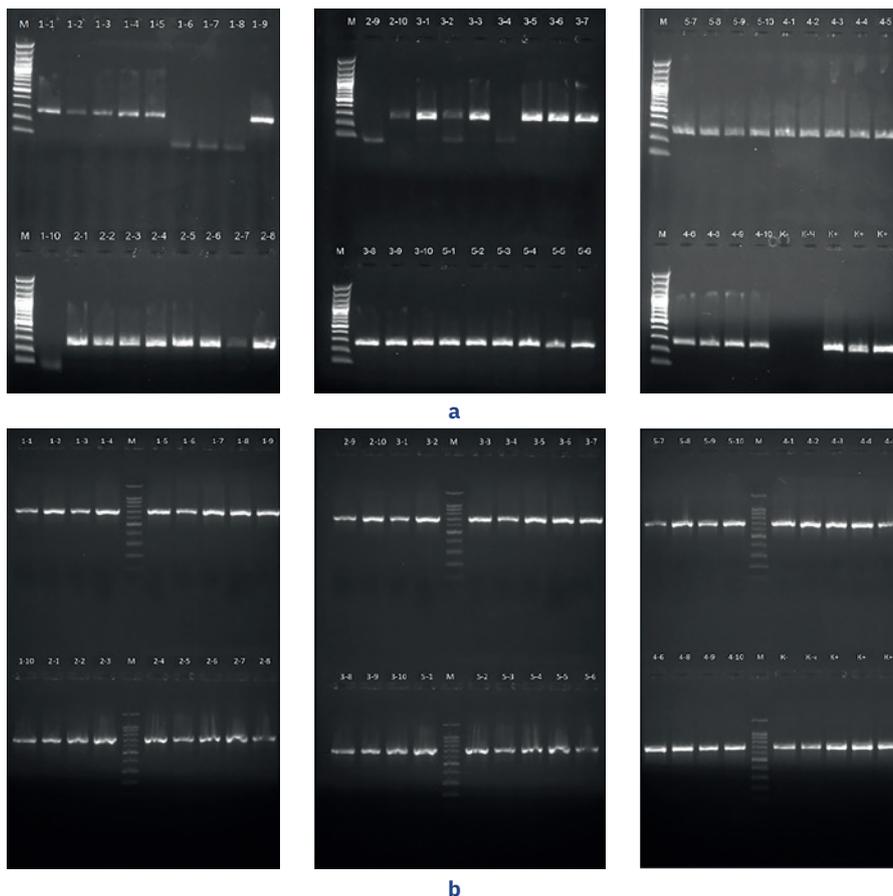
В течение последующих 10 суток после подтверждения заражения методом ПЦР отмечали развитие заболевания на инокулированных растениях гороха. На 21-е сутки на зараженных растениях сорта Амброзия наблюдали наличие симптомов в виде увядания нижних листьев, хлорозов и краевых ожогов белого цвета (см. рис. 5).

DNA. For all samples and internal positive control, PCR resulted in amplification products of 714 bp (see Fig. 4).

The PCR results obtained allow to conclude that the pathogen of bacterial blight of pea was present in all pea cultivars inoculated with a bacterial suspension 11 days after infection, despite the fact that Ambrosia cultivar plants did not show external signs of infection with the phytopathogen.

Over the next 10 days after PCR-confirmed infection, the disease on inoculated pea plants was noted to develop. On the 21<sup>st</sup> day, the symptom in the form of lower leaves wilting, chlorosis and white marginal burns was observed on the infected Ambrosia cultivar plants (see Fig. 5).

Wilting of 30 plants was recorded, which led to the death of 18 plants; 20 plants out of 50 infected did not show symptoms (see Table 2).



**Рис. 4.** Электрофореграмма, демонстрирующая результат ПЦР с праймерами AN7F/AN7R (а) и внутренний положительный контроль (б). 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд; K+ – положительный контроль амплификации; K- – отрицательный контроль амплификации; K-ч – отрицательный контроль чистой зоны. 1 деление маркера генетического веса GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder ready-to-use (Thermo Fisher Scientific, США) (M) = 100 п. о.

**Fig. 4.** Electropherogram showing the PCR result with primers AN7F/AN7R (a) and internal positive control (b). 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar; K+ – positive amplification control; K- – negative amplification control; K-ч – negative clean zone control. 1 genetic weight marker division GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder ready-to-use (Thermo Fisher Scientific, США) (M) = 100 bp

Отмечено увядание 30 растений, которое привело к гибели 18 растений, у 20 растений из 50 зараженных симптомы не проявлялись (см. табл. 2).

В результате исследования выявлена повышенная восприимчивость к бактериальной инфекции у сортов гороха Варяг, Алтайский усатый, Астронавт. Растения имели выраженные симптомы заболевания, приводящие к снижению вегетативной массы, увяданию и гибели растения. Данные сорта могут быть рекомендованы в качестве растений для инокуляции при подтверждении вирулентности изолятов *P. syringae* pv. *pisii* в ходе бактериологических исследований с помощью теста на патогенность.

На сорте Амброзия не проявлялись симптомы заболевания через 11 суток после инокуляции, и ни одно растение этого сорта не погибло через 21 день после заражения несмотря на то, что гибель растений других сортов составила от 30 до 50%. В дальнейшем сорт Амброзия предлагается к применению в селекции в качестве донора устойчивости при селекции новых сортов и для выявления генов устойчивости к этому фитопатогену.

The study revealed increased susceptibility to bacterial infection in the pea cultivars Varyag, Altaisky Usatiy, and Astronavt. The plants had pronounced disease symptoms leading to a decrease in vegetative mass, wilting and death. These cultivars can be recommended as plants for inoculation should the virulence of *P. syringae* pv. *pisii* isolates be confirmed during bacteriological studies using a pathogenicity test.

The Ambrosia cultivar did not show disease symptoms for 11 days after inoculation, and not a single plant of this cultivar died 21 days after the infection, despite the fact that the death rate of other cultivars ranged from 30 to 50%. In the future, the Ambrosia cultivar is proposed for use in breeding as a donor of resistance in the selection of new cultivars and for identifying genes for resistance to this phytopathogen.

### CONCLUSION

The disease symptoms were determined on inoculated plants of five mid-season pea cultivars. The presence of the phytopathogen in infected plants was confirmed using PCR. The size of DNA fragments specific for the bacterial blight of pea pathogen when using PCR with primers AN7F/AN7R was 272 bp. The cultivars most susceptible to the phytopathogen (Varyag, Altaisky Usatiy and Astronavt) are recommended

for use when confirming the virulence of bacterial blight of pea isolates. Based on the results of the disease development analysis on infected plants and PCR tests, the Ambrosia cultivar was identified as promising for use in breeding for resistance to bacterial blight of pea.

### REFERENCES

1. Area and harmfulness zones of bacterial blight of pea (scientific and analytical review) [Areal i zony vredenosti bakterialnogo ozhoga gorokha (nauchno-analiticheskiy obzor)] / Lazarev A.M., Korobov V.A., Nadtochiy I.N., Mysnik E.N. // Scientific bulletins. Series "Natural Sciences". 2015; 15 (212): 29–35. (in Russ.)
2. Areas and zones of harmfulness of main plant bacterioses of plants on territory of Russia and neighboring countries [Areal i zony vredenosti



**Рис. 5.** Симптомы на листьях гороха на 21-е сутки после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi*: 1 – сорт Варяг; 2 – сорт Алтайский усатый; 3 – сорт Астронавт; 4 – сорт Амброзия; 5 – сорт Алтайский изумруд (фото А.С. Бакаевой)

**Fig. 5.** Symptoms on pea leaves on the 21<sup>st</sup> day after infection with the *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105: 1 – Varyag cultivar; 2 – Altaisky Usatiy cultivar; 3 – Astronavt cultivar; 4 – Ambrosia cultivar; 5 – Altaisky izumrud cultivar (photos by A.S. Bakaeva)

**Табл. 2. Проявление симптомов бактериального ожога гороха после заражения штаммом CFBP 2105 *P. syringae* pv. *pisi* на 21-й день после заражения**

Сорт	Номер растения											Проявление симптомов, %	Гибель, %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	К-		
Варяг	ур, г	ур	б/с	ур, г	ур, г	б/с	б/с	б/с	ур, г	ур, г	б/с	60,0	50,0
Алтайский усатый	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	ур, г	ур	б/с	ур	б/с	б/с	б/с	70,0	50,0
Астронавт	ур	б/с	ур	б/с	ур	ур, г	б/с	80,0	50,0				
Амброзия	ур	б/с	б/с	б/с	ур	б/с	б/с	б/с	б/с	ур	б/с	30,0	–
Алтайский изумруд	б/с	ур	б/с	ур, г	ур, г	ур, г	б/с	б/с	ур	ур	б/с	60,0	30,0

**Примечание:** ур – увядание растений; г – гибель растений; б/с – растения без симптомов.

**Table 2. Manifestation of bacterial blight of pea symptoms after infection with the *P. syringae* pv. *pisi* strain CFBP 2105 on the 21<sup>st</sup> day after infection**

Cultivar	Plant number											Symptoms manifestation, %	Death, %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	К-		
Varyag	pw, d	pw	w/s	pw, d	pw, d	w/s	w/s	w/s	pw, d	pw, d	w/s	60.0	50.0
Altaisky Usatiy	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	pw, d	pw	w/s	pw	w/s	w/s	w/s	70.0	50.0
Astronavt	pw	w/s	pw	w/s	pw	pw, d	w/s	80.0	50.0				
Ambrosia	pw	w/s	w/s	w/s	pw	w/s	w/s	w/s	w/s	pw	w/s	30.0	–
Altaisky izumrud	w/s	pw	w/s	pw, d	pw, d	pw, d	w/s	w/s	pw	pw	w/s	60.0	30.0

**Note:** pw – plant wilting; d – death; w/s – plants without symptoms.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Определены симптомы заболевания на инокулированных растениях пяти среднеспелых сортов гороха. Наличие фитопатогена в зараженных растениях подтверждено с помощью ПЦР-анализа. Размер специфичных для возбудителя бактериального ожога гороха фрагментов ДНК при применении ПЦР с праймерами AN7F/AN7R составил 272 п. о. Сорта, наиболее восприимчивые к фитопатогену (Варяг, Алтайский усатый и Астронавт), рекомендованы к использованию при подтверждении вирулентности изолятов бактериального ожога гороха. По результатам анализа развития болезни на зараженных растениях и проведения ПЦР-тестов сорт Амброзия определен как перспективный для использования в селекции на устойчивость к бактериальному ожогу гороха.

osnovnykh bakteriozov rasteniy na territorii Rossii i sopredelnykh stran] / Lazarev A.M., Mysnik E.N., Varitsev Yu.A., Zaitsev I.A., Kozhemyakov A.P., Popov F.A., Volgarev S.A., Chebotar V.K. // Plant Protection News. Supplements. 2017: 24 p. (in Russ.)

3. State register of selection achievements approved for use. V. 1 “Plant cultivars” (official publication). M: FGBNU “Rosinformagrotekh”, 2021. 719 p. (in Russ.)

4. Zotikov V.I., Budarina G.A. Diseases of peas and the basic techniques of protecting the crop in Central Russia [Bolezni gorokha i osnovnyye priyemy

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Ареал и зоны вредоносности бактериального ожога гороха (научно-аналитический обзор) / Лазарев А.М., Коробов В.А., Надточий И.Н., Мысник Е.Н. // Научные ведомости. Серия «Естественные науки». 2015. № 15 (212). С. 29–35.
2. Ареалы и зоны вредоносности основных бактериозов растений на территории России и сопредельных стран / Лазарев А.М., Мысник Е.Н., Варицев Ю.А., Зайцев И.А., Кожемяков А.П., Попов Ф.А., Волгарев С.А., Чеботарь В.К. // Вестник защиты растений. Приложения. 2017. 24 с.
3. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1 «Сорта растений» (официальное издание). М: ФГБНУ «Росинформагротех», 2021. 719 с.
4. Зотиков В.И., Бударина Г.А. Болезни гороха и основные приемы защиты культуры в условиях средней полосы России // Защита и карантин растений. 2015. № 5. С. 11–15.
5. Игнатьева И.М., Кононова Е.П., Доморацкая Д.А. Применение методов диагностики растительных экстрактов зернобобовых культур на наличие возбудителя бактериального ожога гороха // VIII Пущинская конференция «Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов», Школа-конференция молодых ученых, аспирантов и студентов «Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие»: Сборник тезисов докладов. Посвящается памяти выдающегося ученого-микробиолога Льва Владимировича Калакуцкого, Пущино, 06–08 декабря 2022 года / Под редакцией Т.А. Решетиловой. М: ООО «Издательство ГЕОС», 2022. С. 140–141. URL: <https://doi.org/10.34756/GEOS.2022.17.38328>.
6. Игнатьева И.М., Словарева О.Ю., Башкирова И.Г. Применение теста на патогенность в диагностике возбудителя бактериального ожога гороха // Фитосанитария. Карантин растений. 2021. № 3 (7). С. 40–46.
7. Игнатьева И.М., Словарева О.Ю. Применение метода ПЦР для идентификации возбудителя бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* в семенном и растительном материале зернобобовых культур // Сборник материалов 11-й Всероссийской конференции молодых ученых и специалистов «Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки сельскохозяйственных культур». 2021. С. 182–186.
8. Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя бактериального ожога гороха *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»). Быково, 2022. 47 с. Инв. № 60-2022 МР ВНИИКР.
9. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток // Государственная фармакопея Российской Федерации: в 4 т. XIV издание. Москва, 2018. Т. 1.
10. Alfered S. Diseases of vegetable crops // Root rots, wilts, blights of peas. Schroeder W.T. (ed.). Biotech. Books. 2005. P. 25–26.
11. Benlioglu K., Özyilmaz Ü., Ertan D. First report of bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on pea in Turkey // Plant Disease. 2010. Vol. 94 (7). P. 923.
12. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Junting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.
13. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.
14. zashchity kultury v usloviyakh sredney polosy Ros-sii // Plant Protection and Quarantine. 2015; 5: 11–15. (in Russ.)
15. Ignatieva I.M., Kononova E.P., Domoratskaya D.A. Application of methods for diagnosing plant extracts of leguminous crops for the presence of the causative agent of bacterial blight of pea [Primeneniye metodov diagnostiki rastitelnykh ekstraktov zernobobovykh kultur na nalichiye vozбудitelya bakterial'nogo ozhoga gorokha] // VIII Pushchino Conference “Biochemistry, Physiology and Biosphere Role of Microorganisms”, School-Conference of Young Scientists, Postgraduates and Students “Genetic Technologies in Microbiology and Microbial Diversity”: Collection of Abstracts. Dedicated to the memory of the outstanding microbiologist Lev Vladimirovich Kalakutsky, Pushchino, December 06–08, 2022 / Edited by T.A. Reshetilova. M: LLC Publishing House GEOS, 2022. P. 140–141. URL: <https://doi.org/10.34756/GEOS.2022.17.38328>. (in Russ.)
16. Ignatieva I.M., Slovareva O.Yu., Bashkirova I.G. Using a pathogenicity test for the diagnosis of the bacterial pea blight agent // Plant Health and Quarantine. 2021; 3 (7): 40–46.
17. Ignatieva I.M., Slovareva O.Yu. Application of the PCR method to identify the causative agent of bacterial blight of peas *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in seed and plant material of leguminous crops [Primeneniye metoda PTSR dlya identifikatsii возбудitelya bakterial'nogo ozhoga gorokha *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* v semennom i rastitelnom materiale zernobobovykh kultur] // Collection of materials of the 11<sup>th</sup> All-Russian Conference of Young Scientists and Specialists “Topical Issues of Biology, Breeding, Technology of Cultivation and Processing of Agricultural Crops”. 2021: 182–186. (in Russ.)
18. Methodological recommendations for detecting and identifying the pathogen of bacterial blight of pea *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (Sackett) Young et al. Federal State Budgetary Institution “All-Russian Center for Plant Quarantine” (FGBU “VNI IKR”). Bykovo, 2022. 47 p. Inv. No. 60-2022 MR VNI IKR.
19. OFS.1.7.2.0008.15. Determination of the microbial cell concentration / State Pharmacopoeia of the Russian Federation: in 4 volumes. XIV edition. Moscow, 2018. V. 1.
20. Alfered S. Diseases of vegetable crops // Root rots, wilts, blights of peas. Schroeder W.T. (ed.). Biotech. Books. 2005. P. 25–26.
21. Benlioglu K., Özyilmaz Ü., Ertan D. First report of bacterial blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on pea in Turkey // Plant Disease. 2010. Vol. 94 (7). P. 923.
22. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Junting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.
23. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.

12. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* from imported Canadian pea seeds / Qing Ch., Junting Q., Zhen-ji L., Zhi-peng F., Fu-rong L., Hong-yun C., Jian-ping Y. // Acta Phytopathologica Sinica. 2016. Vol. 46 (2). P. 169–175.

13. Detection of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* on Pea Seed. ISHI-Veg International Technical Group. 2020 a, b.

14. Epiphytic life is the main characteristic of the life cycle of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, pea bacterial blight agent / Grondeau C., Mabilia A., Ait-Oumeziane R., Samson R. // European Journal of Plant Pathology. 1996. Vol. 102 (4). P. 353–363.

15. Genetic, biochemical and pathogenic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* strains / Martín-Sanz A., Pérez de la Vega M., Murillo J., Caminero C. // Plant Pathology. 2012. Vol. 61. P. 1063–1072.

16. Grondeau C., Olivier V., Samson R. Detection de *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* dans les semences de pois: Méthodes, limites et controverses // Phytoma. 1993. Vol. 455. P. 45–47.

17. Hollaway G.J., Bretag T.W. Occurrence and distribution of races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in Australia and their specificity towards various field pea (*Pisum sativum*) cultivars // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1995. Vol. 35. P. 629–632.

18. Hollaway G.J., Bretag T.W. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in soil and on pea trash and their importance as a source of inoculum for a following field pea crop // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1997. Vol. 37 (3). P. 369–375.

19. Hollaway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review // Aust. J. Agric. Res. 2007. Vol. 58. P. 1086–1099.

20. Identification of pathovars and races of *Pseudomonas syringae*, the main causal agent of bacterial diseases in pea in North-Central Spain, and the search for resistance / Martín-Sanz A., Palomo J., Pérez de la Vega M., Caminero C. // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 129. P. 57–69.

21. Ignatyeva I.M., Karimova E.V., Prikhodko S.I. Diagnostics of the bacterial blight pathogen of bean *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in plant and seed material of grain legumes using molecular genetics methods // Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials (MOSM2020): Proceedings of the IV International Conference. Yekaterinburg, Russia, 2021. P. 030014. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0068504>.

22. Lawyer A.S., Chun W. Foliar diseases caused by bacteria // Compendium of pea diseases. Kraft J.M., Pflieger F.L. (ed). St. Paul, M.N. USA, APS Press. 2001. P. 22–24.

23. Masuda Y., Nishiyama K. Occurrence of bacterial blight of pea caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* // Journal of Phytopathology. 2001. Vol. 67. P. 206–207.

24. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel / Arnold D.L., Lovell H.C., Jackson R.W., Mansfield J.W. // Molecular Plant Pathology. 2011. Vol. 17. P. 617–627.

25. Roberts S.J. Effect of soil moisture on the transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling // Plant Pathology. 1992. Vol. 41. P. 136–140.

14. Epiphytic life is the main characteristic of the life cycle of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, pea bacterial blight agent / Grondeau C., Mabilia A., Ait-Oumeziane R., Samson R. // European Journal of Plant Pathology. 1996. Vol. 102 (4). P. 353–363.

15. Genetic, biochemical and pathogenic diversity of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* strains / Martín-Sanz A., Pérez de la Vega M., Murillo J., Caminero C. // Plant Pathology. 2012. Vol. 61. P. 1063–1072.

16. Grondeau C., Olivier V., Samson R. Detection de *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* dans les semences de pois: Méthodes, limites et controverses // Phytoma. 1993. Vol. 455. P. 45–47.

17. Hollaway G.J., Bretag T.W. Occurrence and distribution of races of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in Australia and their specificity towards various field pea (*Pisum sativum*) cultivars // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1995. Vol. 35. P. 629–632.

18. Hollaway G.J., Bretag T.W. Survival of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* in soil and on pea trash and their importance as a source of inoculum for a following field pea crop // Australian Journal of Experimental Agriculture. 1997. Vol. 37 (3). P. 369–375.

19. Hollaway G.J., Bretag T.W., Price T.V. The epidemiology and management of bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) of field pea (*Pisum sativum*) in Australia: a review // Aust. J. Agric. Res. 2007. Vol. 58. P. 1086–1099.

20. Identification of pathovars and races of *Pseudomonas syringae*, the main causal agent of bacterial diseases in pea in North-Central Spain, and the search for resistance / Martín-Sanz A., Palomo J., Pérez de la Vega M., Caminero C. // European Journal of Plant Pathology. 2011. Vol. 129. P. 57–69.

21. Ignatyeva I.M., Karimova E.V., Prikhodko S.I. Diagnostics of the bacterial blight pathogen of bean *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* in plant and seed material of grain legumes using molecular genetics methods // Modern Synthetic Methodologies for Creating Drugs and Functional Materials (MOSM2020): Proceedings of the IV International Conference. Yekaterinburg, Russia, 2021. P. 030014. URL: <https://doi.org/10.1063/5.0068504>.

22. Lawyer A.S., Chun W. Foliar diseases caused by bacteria // Compendium of pea diseases. Kraft J.M., Pflieger F.L. (ed). St. Paul, M.N. USA, APS Press. 2001. P. 22–24.

23. Masuda Y., Nishiyama K. Occurrence of bacterial blight of pea caused by *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* // Journal of Phytopathology. 2001. Vol. 67. P. 206–207.

24. *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*: from 'has bean' to supermodel / Arnold D.L., Lovell H.C., Jackson R.W., Mansfield J.W. // Molecular Plant Pathology. 2011. Vol. 17. P. 617–627.

25. Roberts S.J. Effect of soil moisture on the transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling // Plant Pathology. 1992. Vol. 41. P. 136–140.

26. Specific oligonucleotide primers for the identification of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* yield one of

26. Specific oligonucleotide primers for the identification of *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* yield one of two possible DNA fragments by PCR amplification: evidence of the phylogenetic divergence / Arnold D.L., Athey-Pollard A., Gibbon M.J., Taylor J.D., Vivian A. // Physiological and Molecular Plant Pathology. 1997. Vol. 51 (3). P. 213.

27. Transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling: effects of inoculum dose, inoculation method, temperature and soil moisture / Roberts S.J., Rzzidout M.S., Peach L., Brough J. // Journal of Applied Bacteriology. 1996. Vol. 81 (1). P. 65–72.

28. АБ Центр. Об экспорте гороха из России в 2001–2021 гг. [Электронный ресурс]. 2021. URL: <https://ab-centre.ru/news/ob-eksporte-goroha-iz-rossii-v-2001-2021-gg> (дата обращения: 15.02.2023).

29. ФГБУ «Центр Агроаналитики». Зерновые и зернобобовые, экспорт и импорт. Экспорт гороха из России в сезоне 2021/22 составил рекордные 1,4 млн т [Электронный ресурс]. 2022. URL: <https://specagro.ru/news/202208/eksport-gorokha-iz-rossii-v-2021-2022-selkhozgodu-sostavil-rekordnye-14-mln-t> (дата обращения: 15.02.2023).

30. EPPO Global Database [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 10.05.2023).

31. EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI) [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMPI/categorization> (дата обращения: 25.08.2023).

32. UK, CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight) [Электронный ресурс]. 2022. URL: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44988> (дата обращения: 25.08.2023).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Игнатьева Ирина Михайловна**, научный сотрудник – заведующая лабораторией бактериологии и анализа ГМО ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: [babiraignirmi@ya.ru](mailto:babiraignirmi@ya.ru).

**Бакаева Александра Сергеевна**, агроном лаборатории бактериологии и анализа ГМО ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; e-mail: [asyaasya.asya214@gmail.com](mailto:asyaasya.asya214@gmail.com).

two possible DNA fragments by PCR amplification: evidence of the phylogenetic divergence / Arnold D.L., Athey-Pollard A., Gibbon M.J., Taylor J.D., Vivian A. // Physiological and Molecular Plant Pathology. 1997. Vol. 51 (3). P. 213.

27. Transmission of pea bacterial blight (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*) from seed to seedling: effects of inoculum dose, inoculation method, temperature and soil moisture / Roberts S.J., Ridout M.S., Peach L., Brough J. // Journal of Applied Bacteriology. 1996. Vol. 81 (1). P. 65–72.

28. АБ Центр. On the export of peas from Russia in 2001–2021 [Electronic resource]. 2021. URL: <https://ab-centre.ru/news/ob-eksporte-goroha-iz-rossii-v-2001-2021-gg> (last accessed: 15.02.2023).

29. Federal State Budgetary Institution “Agro-analytics Center”. Cereals and legumes, export and import. Pea exports from Russia in the 2021/22 season amounted to a record 1.4 million tons [Electronic resource]. 2022. URL: <https://specagro.ru/news/202208/eksport-gorokha-iz-rossii-v-2021-2022-selkhozgodu-sostavil-rekordnye-14-mln-t> (last accessed: 15.02.2023).

30. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int> (last accessed: 10.05.2023).

31. EPPO Global Database. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (PSDMPI) [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMPI/categorization> (last accessed: 25.08.2023).

32. UK, CAB International. *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (bacterial: pea blight) [Electronic resource]. 2022. URL: <https://doi.org/10.1079/cabicompendium.44988> (last accessed: 25.08.2023).

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Irina Ignatieva**, Researcher, Head of Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; ORCID 0000-0003-1047-0105, e-mail: [babiraignirmi@ya.ru](mailto:babiraignirmi@ya.ru).

**Aleksandra Bakaeva**, Agronomist, Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, FGBU “VNI IKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; e-mail: [asyaasya.asya214@gmail.com](mailto:asyaasya.asya214@gmail.com).

## Листовые нематоды рода *Aphelenchoides* на декоративных и дикорастущих растениях

\* ХУДЯКОВА Е.А.<sup>1</sup>, СУДАРИКОВА С.В.<sup>2</sup>,  
БУТОВ Е.В.<sup>3</sup>, ВАРФОЛОМЕЕВА Е.А.<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup> ФГБУ «Всероссийский центр карантина  
растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково,  
г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

<sup>4</sup> Ботанический институт имени В.Л. Комарова  
Российской академии наук (БИН РАН),  
г. Санкт-Петербург, Россия, 197022

<sup>1</sup> e-mail: fer59@mail.ru

<sup>2</sup> e-mail: sudarikovah@mail.ru

<sup>3</sup> e-mail: kitsakbaki@gmail.com

<sup>4</sup> e-mail: EVarfolomeeva@binran.ru

### АННОТАЦИЯ

Листовые нематоды рода *Aphelenchoides* не являются карантинными для Российской Федерации, но регулируются в ряде стран – импортеров российской продукции: Китае, Аргентине, Турции, Тунисе, Египте, Марокко, Чили, Мексике и других. В случае выявления этих видов нематод в поставляемой продукции, согласно международному и национальным фитосанитарным законодательствам могут быть приняты соответствующие фитосанитарные меры (например, возврат, уничтожение, обработки или введение временных ограничений на ввоз продукции, в том числе зерновой, из России), которые приводят к существенным экономическим издержкам.

Земляничная листовая нематода *Aphelenchoides fragariae* (Ritzema Bos, 1890) Christie, 1932 и хризантемная листовая нематода *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz, 1911) Steiner & Buhner, 1932 широко распространены в агроценозах России и поражают зерновые и зернобобовые культуры. Экспорт продукции из Российской Федерации предусматривает выполнение фитосанитарных требований страны-импортера, в частности, отсутствие в продукции этих вредных организмов. Несоблюдение данных требований может нанести серьезный ущерб репутации России как поставщика продукции.

Задачами фитосанитарной службы является обнаружение указанных видов нематод в экспортируемых грузах, а также выявление их в агроценозах. В настоящее время для этих видов не существует методических рекомендаций по выявлению и идентификации.

В данной работе изучены растения – хозяева листовых нематод рода *Aphelenchoides* из различных регионов Российской Федерации и признаки их поражения нематодами. Дополнены перечни растений-хозяев для каждого вида. Симптомы поражения проиллюстрированы оригинальными фотографиями авторов.

## Foliar nematodes of the genus *Aphelenchoides* on ornamental and wild plants

\* ELENA A. KHUDYAKOVA<sup>1</sup>,  
STELLA V. SUDARIKOVA<sup>2</sup>, EVGENY V. BUTOV<sup>3</sup>,  
ELIZAVETA A. VARFOLOMEIEVA<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup> FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center”  
(FGBU “VNIKCR”), Bykovo, Urban district Ramensky,  
Moscow Oblast, Russia, 140150

<sup>4</sup> Komarov Botanical Institute of the Russian Academy  
of Sciences, St. Petersburg, Russia, 197022

<sup>1</sup> e-mail: fer59@mail.ru

<sup>2</sup> e-mail: sudarikovah@mail.ru

<sup>3</sup> e-mail: kitsakbaki@gmail.com

<sup>4</sup> e-mail: EVarfolomeeva@binran.ru

### ABSTRACT

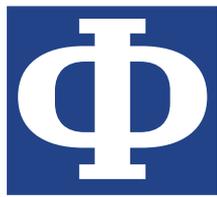
Foliar nematodes of the genus *Aphelenchoides* are not of quarantine status for the Russian Federation, though are regulated in some countries importing Russian products: China, Argentina, Turkey, Tunisia, Egypt, Morocco, Chile, Mexico, etc. In accordance with international and national phytosanitary legislation, should these nematode species be detected in imported products, appropriate phytosanitary measures may be taken (for example, return, destruction, treatment or the introduction of temporary restrictions on the import of products, including grain, from Russia), which lead to significant economic costs.

Strawberry foliar nematode *Aphelenchoides fragariae* (Ritzema Bos, 1890) Christie, 1932 and chrysanthemum foliar nematode *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz, 1911) Steiner & Buhner, 1932 are widespread in agrocenoses of Russia and affect grain and leguminous crops. Export of products from the Russian Federation requires compliance with the phytosanitary requirements of the importing country, in particular, the absence of these pests in the products. Failure to comply with these requirements may cause serious damage to Russia's reputation as a supplier.

The tasks of the phytosanitary service are to detect these nematode species in exported regulated products, as well as to identify them in agrocenoses. Currently, there are no methodological recommendations for detection and identification for these species.

The present work studied host plants of foliar nematodes of the genus *Aphelenchoides* from various regions of the Russian Federation and signs of their damage by nematodes. The lists of host plants for each species have been supplemented. Damage symptoms are illustrated with original photographs by the authors.

**Ключевые слова.** Фитосанитария, морфология, морфометрия, полифаг, растения-хозяева.



## ВВЕДЕНИЕ

итопатогенные нематоды растений принадлежат к числу наиболее опасных и экономически значимых вредителей сельскохозяйственных культур во всем мире. Среди растений, являющихся хозяевами этих нематод, – многие важ-

ные пищевые и кормовые культуры, в том числе зерновые, овощные и бобовые, а также декоративные и цветочные. По некоторым оценкам, общемировые потери урожая сельскохозяйственных культур от паразитирования нематод на растениях оцениваются свыше 77 млрд долларов США в год (Seinhorst, 1986). В России известны около 160 видов паразитических нематод, поражающих вегетативные (побег и корень) и генеративные (семена и плоды) органы растений из разных семейств. Кроме того, часть этих нематод являются одновременно и переносчиками грибных, бактериальных и вирусных заболеваний, которые усиливают их негативное влияние на зараженные растения (Анисимов и др., 2009).

Методы контроля численности и вредоносности фитопаразитических нематод в настоящее время не отличаются многообразием. Высокоэффективные химические препараты-нематотициды из-за своей токсичности оказывают вредное воздействие на окружающую среду, в том числе и на здоровье человека, поэтому их использование в сельском хозяйстве ограничено. Применение же специализированных хищников, а также биологических препаратов на основе патогенных для нематод бактерий и грибов не всегда оправданно экономически (Van Riel, Mulder, 1998; Whitworth et al., 2018).

Наиболее доступным методом регулирования на сегодня является профилактика фитогельминтозов путем применения мер по ограничению распространения нематод из очага заражения (карантинные мероприятия), а также такие агротехнические приемы, как возделывание устойчивых сортов и использование научно обоснованных систем севооборота.

Род *Aphelenchoides* еще не полностью упорядочен с точки зрения систематики и номенклатуры. В настоящее время считается, что он включает в себя около 180 видов (Handoo et al., 2020). Большинство нематод *Aphelenchoides* spp. – это микофаги, которые обитают и размножаются в ризосфере зараженных грибами растений. Основной экономический ущерб наносят листовые нематоды, питающиеся внутри надземных частей растений, преимущественно в листьях и бутонах. Важнейшими вредителями среди листовых нематод являются нематоды рода *Aphelenchoides*: земляничная нематода *A. fragariae* (Ritzema Bos) Christie, хризантемная нематода

**Key words.** Phytosanitary, morphology, morphometry, polyphage, host plants.

## INTRODUCTION

Phytopathogenic plant nematodes belong to the most dangerous and economically important pests of agricultural crops worldwide. The host plants of these nematodes include many important food and forage crops, including grains, vegetables and legumes, as well as ornamental and floral crops. According to some estimates, global crop yield losses from nematode parasitism on plants reach over \$ 77 billion per year (Seinhorst, 1986). About 160 species of parasitic nematodes are known in Russia, affecting the vegetative (shoot and root) and generative (seeds and fruits) plant organs from different families. In addition, some of these nematodes are also vectors of fungal, bacterial and viral diseases, which enhance their negative impact on infected plants (Anisimov et al., 2009).

Methods for controlling the number and harmfulness of plant-parasitic nematodes are currently not very diverse. Due to their toxicity, highly effective chemical nematicides have a harmful effect on the environment, including human health, which accounts for their limited use in agriculture. The use of specialized predators, as well as biological preparations based on bacteria and fungi pathogenic for nematodes, is not always economically justified (Van Riel, Mulder, 1998; Whitworth et al., 2018).

The most accessible control method today is the prevention of phytohelminthoses by using measures to limit the spread of nematodes from the source of infection (quarantine measures), as well as such agronomic practices as the cultivation of resistant varieties and the use of scientifically based crop rotation systems.

The genus *Aphelenchoides* is not yet fully organized in terms of taxonomy and nomenclature. It is currently believed to include about 180 species (Handoo et al., 2020). Most nematodes *Aphelenchoides* spp. are myco-phages that live and reproduce in the rhizosphere of plants infected with fungi. The main economic damage is caused by foliar nematodes feeding inside the above-ground parts of plants, mainly in leaves and buds. The most important pests among foliar nematodes are those of the genus *Aphelenchoides*: *A. fragariae* (Ritzema Bos) Christie, *A. ritzemabosi* (Schwartz) Steiner & Buhner, *A. besseyi* Christie, 1942 (Sánchez-Monge et al., 2015) and *A. blastophthorus* Franklin, 1952. *Aphelenchoides* spp. parasitize more than 700 plant species from 85 families, including ferns, herbaceous and woody plants such as onions, garlic, corn, potatoes, soybeans, Chinese cabbage, sugar cane, horseradish,

*A. ritzemabosi* (Schwartz) Steiner & Buhner, рисовая нематода *A. besseyi* Christie, 1942 (Sánchez-Monge et al., 2015) и почкоядная нематода *A. blastophthorus* Franklin, 1952. Афеленхоидные нематоды паразитируют более чем на 700 видах растений из 85 семейств, включая папоротники, травянистые и древесные растения, такие как лук, чеснок, кукуруза, картофель, соя, пекинская капуста, сахарный тростник, хрен, листья салата, пшеница, цветочные, косточковые культуры, каучуковое дерево (Кириянова, Кралль, 1971). Листовые нематоды могут обитать как внутри листьев, почек, так и на их поверхности в пленке воды. Питаются они содержимым клеток, в результате чего листья, особенно молодые, становятся скрученными, искривленными и недоразвитыми. Растения, пораженные листовыми нематодами, часто остаются низкорослыми и становятся кустистыми (Хомяк и др., 2021). Листья выглядят изогнутыми, скрученными или морщинистыми и имеют более темный цвет, чем обычно. Красноватый цвет может появиться на краях листа, жилки и черешка. Такие растения поздно начинают плодоносить (Kohl, 2011; Кириянова, Кралль, 1971). Повреждение листовыми нематодами можно спутать с заболеваниями, вызванными некоторыми бактериями, грибами, вирусами, недостатком питательных веществ или химическими повреждениями (Кириянова, Кралль, 1971).

В России *A. fragariae* и *A. ritzemabosi* не имеют статуса карантинных видов. В настоящее время они регулируются в ряде стран, куда экспортируется российская продукция. В случае выявления этих видов нематод в поставляемой продукции, согласно международному и национальным фитосанитарным законодательствам могут быть приняты соответствующие фитосанитарные меры (например, возврат, уничтожение, обработки или введение временных ограничений на ввоз продукции, в том числе зерновой, из России), что приводит к существенным экономическим издержкам. Целью данной работы являлось уточнение круга растений – хозяев *A. fragariae* и *A. ritzemabosi* и симптомов их повреждений.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили растения декоративных культур, земляники садовой, риса, люцерны и других, которые отбирали в питомниках, ботанических садах и в полях севооборотов.

Для визуального выявления нематодозов и отбора проб растительных тканей и прикорневого грунта использовали систему распределения растительных нематод по типам повреждения растений Дж. Кристи (Courtney et al., 1955).

Для выделения нематод из почвы и растительных тканей использовали модифицированный метод Бермана со сроком экспозиции в 5 суток (Деккер, 1972; Хомяк и др., 2021), а также метод флотации. Умерщвление нематод осуществляли путем нагревания (Hooper, 1986).

Временные препараты и окрашивание делали по стандартным методикам (Кириянова, Кралль, 1971; Hooper, 1986). При определении видов использовали определительные таблицы и ключи (Кириянова, Кралль, 1971; Chitwood et al., 1965; McCuiston et al., 2007; Stirling et al., 2002).

lettuce, wheat, flowers, stone fruits, rubber tree (Kiryanova, Krall, 1971). Foliar nematodes can live both inside leaves, buds, and on their surface in the water film. They feed on the cell contents, as a result of which leaves, especially young ones, become curled, twisted and underdeveloped (Khomyak et al., 2021). Leaves appear bent, curled, or wrinkled and are darker in color than normal. A reddish color may appear on the leaf margins, veins and petiole. Such plants begin to bear fruit late (Kohl, 2011; Kiryanova, Krall, 1971). Foliar nematode damage can be confused with diseases caused by certain bacteria, fungi, viruses, nutrient deficiencies or chemical damage (Kiryanova, Krall, 1971).

In Russia, *A. fragariae* and *A. ritzemabosi* do not have the status of quarantine species. Currently, they are regulated in some countries importing Russian products. In accordance with international and national phytosanitary legislation, if these nematode species are detected in the supplied products, appropriate phytosanitary measures can be taken (for example, return, destruction, treatment or the introduction of temporary restrictions on the import of products, including grain, from Russia), which leads to significant economic costs. The purpose of this work was to clarify the range of host plants for *A. fragariae* and *A. ritzemabosi* and their damage symptoms.

## MATERIALS AND METHODS

The material for the study was plants of ornamental crops, strawberries, rice, alfalfa and others, which were selected in nurseries, botanical gardens and in crop rotation fields.

For visual nematode detection and sampling of plant tissues and root soil, we used J. Christie's system of plant parasitic nematodes distribution by type of plant damage (Courtney et al., 1955).

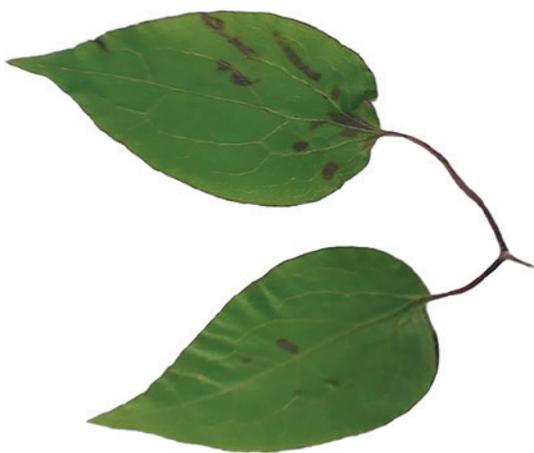
To extract nematodes from soil and plant tissues, a modified Berman method with an exposure period of 5 days was used (Dekker, 1972; Khomyak et al., 2021), as well as the flotation method. Nematodes were killed by heating (Hooper, 1986).

Temporary slides and staining were done according to standard methods (Kiryanova and Krall, 1971; Hooper, 1986). When identifying species, identification tables and keys were used (Kiryanova, Krall, 1971; Chitwood et al., 1965; McCuiston et al., 2007; Stirling et al., 2002).

Studies were carried out on microscopes Stemi 2000-C (Carl Zeiss) and Imager.A1 (Carl Zeiss) with a photo attachment based on AxioCam MRc.

## RESULTS AND DISCUSSION

For the study, samples of plants with symptoms of foliar nematode damage were selected. Symptoms of nematode infestation are often confused with those caused by pathogens such as bacteria or fungi. Plants can respond differently to nematode damage (Chalaoska, 2006), and symptoms vary among crops. During our research, it was revealed that on infected thick and succulent leaves, areas initially appear as if saturated



**Рис. 1.** Некрозы на листьях клематиса при поражении хризантемной листовой нематодой *Aphelenchoides ritzemabosi* (фото Е.А. Худяковой)

**Fig. 1.** Necrosis on clematis leaves caused by *Aphelenchoides ritzemabosi* (photo by E.A. Khudyakova)

Исследования проводили на микроскопах Stemi 2000-C (Carl Zeiss) и Imer.A1 (Carl Zeiss) с фотонасадкой на основе AxioCam MRC.

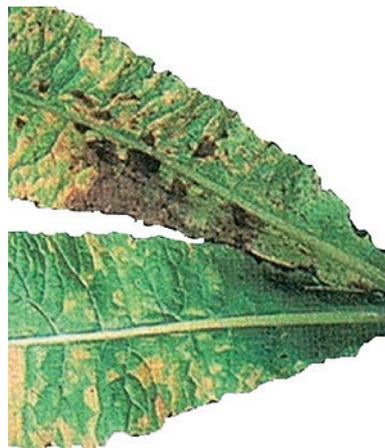
### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования отбирали образцы растений с симптомами поражения листовыми нематодами. Часто симптомы поражения нематодами путают с симптомами, вызванными патогенными микроорганизмами, например бактериями или грибами. Растения могут по-разному реагировать на поражение нематодами (Chałauoska, 2006), и симптомы на разных культурах отличаются. В ходе нашего исследования было выявлено, что на зараженных толстых и сочных листьях первоначально появляются участки, как бы пропитанные водой. Симптомы поражения собранных растений были разделены на группы и проиллюстрированы.

**Некрозы листьев** вызваны перемещением и питанием нематод в тканях листа, что приводит к разрыву мезофилла. Первый симптом питания нематод – это появление множества мелких пятен между жилками листьев. Со временем эти пятна увеличиваются в размерах, а затем становится коричневым весь сектор листа между жилками (см. рис. 1).

**Хлороз листьев** – это ранний симптом, характерный для некоторых многолетников, например примулы вечерней кустарниковой. Затем хлоротические пятна становятся коричневыми, давая картину типичных некрозов, ограниченных жилками (см. рис. 2, 3).

**Мозаичность листьев.** На листьях образуются светло-зеленые и желтоватые хаотично разбросанные пятна (см. рис. 4).



**Рис. 2.** Хлороз листьев на примуле вечерней, пораженной земляничной листовой нематодой *Aphelenchoides fragariae* (фото Е.А. Худяковой)

**Fig. 2.** Leaf chlorosis on evening primrose caused by *Aphelenchoides fragariae* (photo by E.A. Khudyakova)

with water. Damage symptoms of collected plants were divided into groups and illustrated.

**Leaf necrosis** is caused by the movement and feeding of nematodes in leaf tissues, which leads to rupture of the mesophyll. The first symptom of nematode feeding is the appearance of many small spots



**Рис. 3.** Хлороз листьев земляники садовой, пораженной *A. fragariae* (фото О.В. Синкевич, Карельский филиал ФГБУ «ВНИИКР»)



**Fig. 3.** Chlorosis of garden strawberry leaves caused by *A. fragariae* (photos by O.V. Sinkevich, Karelian branch of FGBU "VNIICR")



**Рис. 4.** Симптомы поражения листьев орхидеи *A. fragariae* (фото Е.А. Худяковой)



**Fig. 4.** Damage symptoms on orchid leaves caused by *A. fragariae* (photos by E.A. Khudyakova)



**Рис. 5.** Задержка роста и деформация побегов и листьев земляники садовой, пораженной *A. fragariae* (фото Е.А. Худяковой)

**Fig. 5.** Stunted growth and deformation of shoots and leaves of garden strawberries caused by *A. fragariae* (photo by E.A. Khudyakova)

**Задержка роста основного побега.** Сильно поврежденные нематодами растения развиваются весной намного позже здоровых, они деформированные и низкорослые (см. рис. 5).

**Отмирание верхушечных цветочных и листовых почек.** Растения хуже цветут и проявляют задержку роста. Такие симптомы характерны для буддлеи, хризантем (см. рис. 6).

**Пятна не всегда ограничены жилками,** появляются покраснения, гиперпигментация и побурение листьев (см. рис. 7).



**Рис. 6.** Отмирание верхушечных цветочных почек на хризантемах при поражении *A. ritzemabosi* (фото Е.А. Худяковой)



**Fig. 6.** Dying of apical flower buds on *Chrysanthemum* caused by *A. ritzemabosi* (photos by E.A. Khudyakova)



**Рис. 7.** Листья пеларгонии, пораженные *A. fragariae* (фото Е.А. Худяковой)

**Fig. 7.** *Pelargonium* leaves damaged by *A. fragariae* (photo by E.A. Khudyakova)



**Рис. 8.** Листья эсхинантуса *Aeschynanthus speciosus*, пораженные *A. fragariae* (фото Е.А. Худяковой)

**Fig. 8.** *Aeschynanthus speciosus* leaves damaged by *A. fragariae* (photo by E.A. Khudyakova)

between the veins of the leaves. Over time, these spots increase in size, and then the entire sector of the leaf between the veins turns brown (see Fig. 1).

**Leaf chlorosis** is an early symptom typical of some perennials, such as evening primrose bush. Then the chlorotic spots turn brown, giving a picture of typical necrosis limited to veins (see Fig. 2, 3).

**Leaf mosaic.** Light green and yellowish chaotically scattered spots form on the leaves (see Fig. 4).

**Stunted growth of the main shoot.** Plants severely damaged by nematodes develop in the spring much later than healthy ones; they are deformed and stunted (see Fig. 5).

**Death of apical flower and leaf buds.** Plants bloom worse and show stunted growth. Such symptoms are typical of *Buddleja*, *Chrysanthemum* (see Fig. 6).

**Spots are not always limited to veins,** redness, hyperpigmentation and browning of leaves appear (see Fig. 7).

**Темные водянистые пятна** образуются сначала на нижних листьях, ограничиваются жилками, позже они становятся коричневыми, процесс сопровождается скручиванием листьев. Такие симптомы типичны для синнингии и других растений семейства Gesneriaceae (см. рис. 8).

Описанные выше повреждения появляются на растениях, зараженных нематодами в начале сезона. В случае если происходит заражение листовыми нематодами в конце вегетации, внешние симптомы отсутствуют.

Из собранных растительных образцов выделяли нематод модифицированным методом Бермана (см. рис. 9). Измельченный растительный материал помещали в воду на 12 ч с последующим просмотром под световым микроскопом. Выявленных нематод культивировали, проводили морфологический анализ.

Принадлежность выделенных нематод определяли до вида морфологическим и морфометрическими методами. Параметры исследуемых нематод соответствовали видам *A. fragariae* и *A. ritzemabosi* (размеры по Chizhov et al., 2006) (Зиновьева и др., 2012) (см. табл. 1).

Морфометрические признаки обоих видов близки по своим показателям, но они отличаются по мукро. Хвост *A. fragariae* оканчивается простым мукро, а хвост *A. ritzemabosi* оканчивается характерным для вида четырехлучевым мукро (см. рис. 10, 11).

В отечественной литературе информация о распространенности листовых нематод рода *Aphelenchoides* ограничивается культурами риса и земляники садовой, но практически не затрагивает дикорастущие и декоративные растения.



Рис. 9. Выделение нематод модифицированным методом Бермана (фото Е.А. Худяковой)



Fig. 9. Nematode extraction using the modified Berman method (photos by E.A. Khudyakova)

**Dark watery spots** are formed first on the lower leaves, limited to veins, later they turn brown, the process is accompanied by leaves curling. Such symptoms are typical for *Sinningia* and other plants of the Gesneriaceae family (see Fig. 8).

The damage described above appears on plants infected with nematodes at the beginning of the season. If infection with foliar nematodes occurs at the end of the growing season, there are no external symptoms.

Nematodes were extracted from the collected plant samples using the modified Berman method (see Fig. 9). The crushed plant material was placed in water for 12 hours and then viewed under a light microscope. The identified nematodes were cultured and morphological analysis was carried out.

The identity of the extracted nematodes was determined to species using morphological and morphometric methods. The parameters of the studied nematodes corresponded to the species *A. fragariae* and *A. ritzemabosi* (sizes according to Chizhov et al., 2006) (Zinovieva et al., 2012) (see Table 1).

**Табл. 1. Средние морфометрические параметры выделенных листовых нематод *A. fragariae* и *A. ritzemabosi* в мкм (n = 10)**

**Table 1. Average morphometric parameters of extracted foliar nematodes *A. fragariae* and *A. ritzemabosi* in  $\mu\text{m}$  (n = 10)**

Морфометрические параметры	Morphometric parameters	<i>A. fragariae</i>		<i>A. ritzemabosi</i>	
		самки females	самцы males	самки females	самцы males
Длина тела	Body length	550 ± 42,6	520 ± 47,5	790 ± 49,1	640 ± 41,7
Ширина тела	Body width	12 ± 1,2	11 ± 1,4	18 ± 1,4	16 ± 1,7
Длина хвоста	Tail length	26 ± 2,7	23 ± 3,5	43 ± 3,0	37 ± 3,0
Длина стилета	Stylet length	9 ± 2,0	8 ± 2,0	11 ± 1,2	11 ± 2,1
Спикулы	Spicules	–	12 ± 1,0	–	17 ± 1,1
a	a	45,8 ± 4,5	47,3 ± 3,4	43,9 ± 3,7	40,0 ± 3,9
c	c	21,2 ± 1,1	22,6 ± 1,3	18,4 ± 1,0	17,3 ± 1,1

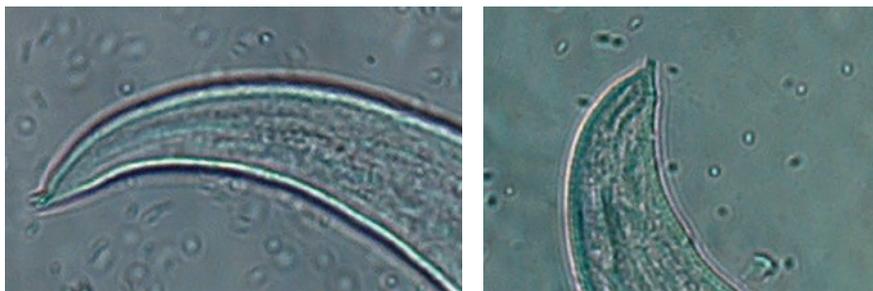


Рис. 10. Сложное мукро у *A. ritzemabosi* (фото Е.А. Худяковой)

Fig. 10. Complex mucro of *A. ritzemabosi* (photos by E.A. Khudyakova)

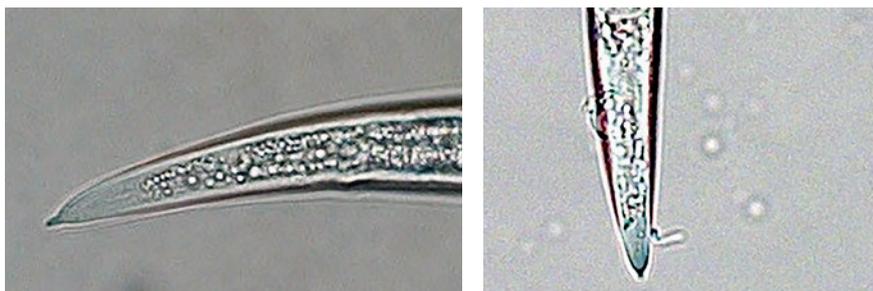


Рис. 11. Простое мукро у *A. fragariae* (фото Е.А. Худяковой)

Fig. 11. Simple mucro of *A. fragariae* (photos by E.A. Khudyakova)

В ходе работы собирали образцы дикорастущих папоротников в заповеднике «Калужские засеки» и в Приморском крае, образцы земляники садовой с частных участков в Московской области, образцы различных декоративных растений в Никитском ботаническом саду и в Ботаническом саду Петра Великого Санкт-Петербурга, образцы риса в Краснодарском крае. Список растений, на которых были выявлены листовые нематоды, приведен в табл. 2.

Впервые на эсхинантусе *Aeschynanthus speciosus* выявлена листовая нематода *A. ritzemabosi*, а на фуксии *Fuchsia pringsheimii* – *A. fragariae*.

По приведенным в таблице данным видно, что на декоративных растениях чаще встречалась хризантемная листовая нематода *A. ritzemabosi*. Земляничная листовая нематода *A. fragariae* была обнаружена на папоротниках в естественных биоценозах в заповеднике «Калужские засеки» и в Приморском крае. Оба вида в смешанной популяции были выявлены на посадках земляники садовой в Крыму. На посадках риса в Краснодарском крае листовые нематоды не были выявлены. По результатам обнаружений листовых нематод на территории Российской Федерации круг растений-хозяев оказался значительно шире, чем указывалось ранее.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных экспедиций в различные регионы Российской Федерации были собраны образцы растений с признаками повреждения листовыми нематодами. Дальнейшие лабораторные исследования показали, что многие декоративные и дикорастущие растения были поражены двумя видами листовых нематод – *A. ritzemabosi* и *A. fragariae*. Обнаружены новые растения-хозяева. Нематода *A. ritzemabosi* впервые была выявлена на *Aeschynanthus speciosus*, а *A. fragariae* – на *Fuchsia pringsheimii*. Составлен и проиллюстрирован список симптомов

The morphometric characters of both species are similar in their indicators, but they differ in mucro. *A. fragariae* tail ends in a simple mucro, while the tail *A. ritzemabosi* ends with a four-ray mucro characteristic of the species (see Fig. 10, 11).

In the Russian studies, information on the distribution of *Aphelenchoides* foliar nematodes is limited to rice and strawberry crops, but practically does not affect wild and ornamental plants.

During this work, there were collected wild ferns samples in the Kaluga Zaseki Nature Reserve and in Primorsky Krai, samples of garden strawberries from private plots in Moscow Oblast, samples of various ornamental plants in the Nikitsky Botanical Garden and in the Peter the Great Botanical Garden of St. Petersburg, and samples of rice in Краснодар Krai. The list of plants on which foliar nematodes were identified is given in Table 2.

todes were identified is given in Table 2.

*A. ritzemabosi* was first detected on *Aeschynanthus speciosus*, and *A. fragariae* – on *Fuchsia pringsheimii*.

According to the data given in the table, it is clear *A. ritzemabosi* was more frequently detected on ornamental plants. *A. fragariae* was detected on ferns in natural biocenoses in the Kaluzhskie Zaseki Nature Reserve and in Primorsky Krai. Both species in a mixed population were identified in strawberry plantings in Crimea. No foliar nematodes were detected on rice plantings in Краснодар Krai. Based on the results of detections of foliar nematodes in the Russian Federation, the range of host plants turned out to be much wider than previously indicated.

### CONCLUSION

During expeditions to various regions of the Russian Federation, samples of plants with damage symptoms caused by foliar nematodes were collected. Further laboratory studies showed that many ornamental and wild plants were affected by two foliar nematode species – *A. ritzemabosi* and *A. fragariae*. New host plants were discovered. Nematode *A. ritzemabosi* was first detected on *Aeschynanthus speciosus*, and *A. fragariae* – on *Fuchsia pringsheimii*. A list of foliar nematode symptoms on various plants was compiled and illustrated. Differences were noted in the symptoms on thick and succulent leaves and on thin leaves.

The collected herbarium material replenished the Helminthology Laboratory collection of the Testing Laboratory Center of FGBU “VNIIEK”. DNA has been isolated and culture of living nematodes is maintained. The obtained materials will be used to prepare methodological recommendations for the detection and identification of foliar nematodes of the genus

проявления листовых нематод на различных растениях. Отмечены различия в симптомах проявления на толстых и сочных листьях и на тонких листьях.

Собранный гербарный материал пополнил коллекцию лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР». Выделена ДНК и поддерживается культура живых нематод. Полученные материалы

*Aphelenchoides*. This will allow timely detection of nematodes and take measures to prevent the introduction of the pest into plant products intended for export.

#### REFERENCES

1. Anisimov B.V. etc. Protection of potatoes from diseases, pests and weeds [Zashchita kartofelya ot

**Табл. 2. Растения-хозяева, на которых выявлены *A. ritzemabosi* и *A. fragariae***  
**Table. 2. Host plants with detected *A. ritzemabosi* and *A. fragariae***

Семейство Family	Виды растений Species	<i>A. ritzemabosi</i>	<i>A. fragariae</i>
Asteraceae – Астровые	<i>Leucanthemopsis alpina</i> – хризантема альпийская		+
	<i>Chrysanthemum</i> spp. – хризантема	+	
	<i>Callistephus chinensis</i> – астра китайская	+	
	<i>Rudbeckia fulgida</i> – рудбекия блестящая	+	
	<i>Echinacea purpurea</i> – эхинацея пурпурная	+	
	<i>Ageratum houstonianum</i> – агератум Хоустона	+	
Asparagaceae – Спаржевые	<i>Hosta plantaginea</i> – хоста подорожниковая		+
Asphodelaceae – Асфodelовые	<i>Heimerocallis</i> sp. – лилейник	+	
Ranunculaceae – Лютиковые	<i>Clematis heracleifolia</i> – ломонос, или клематис борщевиколистный	+	+
	<i>Clematis macropetala</i> – клематис крупнолепестковый	+	+
	<i>Anemone sylvestris</i> – ветреница лесная	+	
	<i>Ranunculus acris</i> – лютик едкий	+	
Lamiaceae – Яснотковые	<i>Lavandula angustifolia</i> – лаванда узколистная	+	
	<i>Ajuga reptans</i> – живучка ползучая	+	
Geraniaceae – Гераниевые	<i>Geranium cantabrigiense</i> – герань кембриджская	+	
	<i>Pelargonium zonale</i> – пеларгония зональная	+	
Gesneriaceae – Геснериевые	<i>Aeschynanthus speciosus</i> – эсхинантус великолепный	+	
Onagraceae – Кипрейные	<i>Oenothera biennis</i> – энотера двулетняя	+	
	<i>Fuchsia pringsheimii</i> – фуксия		+
Primulaceae – Первоцветные	<i>Primula veris</i> – примула весенняя	+	
Pteridaceae – Птерисовые	<i>Adiantum pedatum</i> – адриантум стоповидный		+
	<i>Adiantum diaphanum</i> – адриантум прозрачный, или венерин волос		+
	<i>Pteris longifolia</i> – птерис длиннолистный		+
Cibotiaceae – Циботиевые	<i>Cibotium cumingii</i> – вид древовидного папоротника из рода <i>Cibotium</i>		+
Dennstaedtiaceae – Деннштедтиевые	<i>Pteridium aquilinum</i> – орляк обыкновенный		+
Saxifragaceae – Камнеломковые	<i>Bergenia cordifolia</i> – бадан сердцелистный	+	
	<i>Tiarella cordifolia</i> – тиарелла сердцелистная	+	
Rosaceae – Розоцветные	<i>Fragaria</i> sp. – земляника	+	+
Hydrangeaceae – Гортензиевые	<i>Philadelphus coronarius</i> – чубушник венечный	+	
Caprifoliaceae – Жимолостные	<i>Weigela florida</i> – вейгела цветущая	+	+
Scrophulariaceae – Норичниковые	<i>Buddleja davidii</i> – буддлея Давида	+	

будут использованы для подготовки методических рекомендаций по выявлению и идентификации листовых нематод рода *Aphelenchoides*. Это позволит вовремя выявить нематод и принять меры для предотвращения попадания вредного организма в предназначенную для экспорта растительную продукцию.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов Б.В. и др. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. М.: Картофельовод, 2009, 272 с.
2. Деккер Х. Нематоды растений и борьба с ними (Фитонематология). М.: Колос, 1972, 200 с.
3. Зиновьева С.В. и др. Фитопаразитические нематоды России. Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2012. С. 159–161.
4. Кирьянова Е.С., Кралль Э.Л. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Л.: Наука, 1971. Т. 2. 522 с.
5. Хомяк А.И. и др. Биологический контроль фитопаразитических нематод на основе микроорганизмов (обзор) // Таврический вестник аграрной науки. 2021. № 3 (27). С. 19–219.
6. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus / Sánchez-Monge G.A., Flores L., Salazar L., Hockland S., Bert W. // Zootaxa. 2015. Vol. 4013. No. 2. P. 207–224.
7. Chałaska A. Występowanie, szkodliwość i biologia węgorza chryzantemowca – *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz, 1911) na roślinach ozdobnych. Post. Nauk Rol. 2006. 6. P. 87–101.
8. Conventional and PCR detection of *Aphelenchoides fragariae* in diverse ornamental host plant species / McCuiston J.L., Hudson L.C., Subbotin S.A., Davis E.L., and Warfield C.Y. // J. Nematol. 2007. Vol. 39. P. 343–355.
9. Handoo Z., Kantor M., Carta L. Taxonomy and Identification of Principal Foliar Nematode Species (*Aphelenchoides* and *Litylenchus*) // Plants. 2020. 9 (11). P. 1490. URL: <https://doi.org/10.3390/plants9111490> (дата обращения: 24.05.2023).
10. Hooper D.J. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. In: Laboratory Methods for Working with Plant and Soil Nematodes 6<sup>th</sup> Ed., London: Her Majesty's Stationary Office, 1986, P. 59–80.
11. Kohl L.M. Foliar nematodes: a summary of biology and control with a compilation of host range // Plant health progress. 2011 [Электронный ресурс]. URL: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHP-2011-1129-01-RV> (дата обращения: 08.02.2023).
12. Stirling G., Nicol J., Reay F. Advisory Services for Nematode Pests – Operational Guidelines // Rural Industries Research and Development Corporation, 2002.
13. TAF, an improved fixative in nematode technique / Courtney W.D., Polley D., and Miller V.L. // Plant Disease Reporter. 1955. Vol. 39. P. 570–571.
14. The Nematode Parasites of Plants Catalogued under Their Hosts / Chitwood M., Goodey J.B., Franklin M.T., Hooper D.J., Goodey T. // The Journal of Parasitology. 1966. 52 (4). P. 775.
15. Van Riel H.R., Mulder A. Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in western Europe. In: Potato
- bolezni, vrediteli i sornjakov]. M.: Potato grower, 2009, 272 p. (In Russ.)
2. Dekker H. Plant nematodes and their control (Phytonematology) [Nematody rastenii i bor'ba s nimi]. M.: Kolos, 1972, 200 p. (In Russ.)
3. Zinovieva S.V. et al. Phytoparasitic nematodes of Russia [Fitoparaziticheskie nematody Rossii]. Moscow: Partnership of Scientific Publications KMK, 2012: 159–161. (In Russ.)
4. Kiryanova E.S., Krall E.L. Parasitic nematodes of plants and control measures [Paraziticheskie nematody rastenii i mery bor'by s nimi]. L.: Nauka, 1971; 2: 522 p. (In Russ.)
5. Khomyak A.I. et al. Biological control of plant-parasitic nematodes based on microorganisms (review) [Biologicheskii kontrol' fitoparaziticheskikh nematod na osnove mikroorganizmov (obzor)] // Tauride Bulletin of Agrarian Science. 2021; 3 (27): 19–219. (In Russ.)
6. An updated list of the plants associated with plant-parasitic *Aphelenchoides* (Nematoda: Aphelenchoididae) and its implications for plant-parasitism within this genus / Sánchez-Monge G.A., Flores L., Salazar L., Hockland S., Bert W. // Zootaxa. 2015. Vol. 4013. No. 2. P. 207–224.
7. Chałaska A. Występowanie, szkodliwość i biologia węgorza chryzantemowca – *Aphelenchoides ritzemabosi* (Schwartz, 1911) na roślinach ozdobnych. Post. Nauk Rol. 2006. 6. P. 87–101.
8. Conventional and PCR detection of *Aphelenchoides fragariae* in diverse ornamental host plant species / McCuiston J.L., Hudson L.C., Subbotin S.A., Davis E.L., and Warfield C.Y. // J. Nematol. 2007. Vol. 39. P. 343–355.
9. Handoo Z., Kantor M., Carta L. Taxonomy and Identification of Principal Foliar Nematode Species (*Aphelenchoides* and *Litylenchus*) // Plants. 2020. 9 (11). P. 1490. URL: <https://doi.org/10.3390/plants9111490> (last accessed: 24.05.2023).
10. Hooper D.J. Handling, fixing, staining and mounting nematodes. In: Laboratory Methods for Working with Plant and Soil Nematodes 6<sup>th</sup> Ed., London: Her Majesty's Stationary Office, 1986, P. 59–80.
11. Kohl L.M. Foliar nematodes: a summary of biology and control with a compilation of host range // Plant health progress. 2011 [Electronic resource]. URL: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PHP-2011-1129-01-RV> (last accessed: 08.02.2023).
12. Stirling G., Nicol J., Reay F. Advisory Services for Nematode Pests – Operational Guidelines // Rural Industries Research and Development Corporation, 2002.
13. TAF, an improved fixative in nematode technique / Courtney W.D., Polley D., and Miller V.L. // Plant Disease Reporter. 1955. Vol. 39. P. 570–571.
14. The Nematode Parasites of Plants Catalogued under Their Hosts / Chitwood M., Goodey J.B., Franklin M.T., Hooper D.J., Goodey T. // The Journal of Parasitology. 1966. 52 (4). P. 775.
15. Van Riel H.R., Mulder A. Potato cyst nematodes (*Globodera* species) in western Europe. In: Potato

Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), 1998, p. 271–298.

16. Whitworth J.L., Novy R.G., Zasada I.A., Wang X., Dandurand L.-M., Kuhl J.C. Resistance of Potato Breeding Clones and Cultivars to Three Species of Potato Cyst Nematode // Plant Disease. 2018. 102 (11). P. 2120–2128 [Электронный ресурс]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30156963/2018> (дата обращения: 12.06.2023).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Худякова Елена Анатольевна**, старший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: fer59@mail.ru*.

**Сударикова Стелла Валериевна**, старший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: sudarikovah@mail.ru*.

**Бутов Евгений Викторович**, младший научный сотрудник лаборатории гельминтологии ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: kitsakbkl@gmail.com*.

**Варфоломеева Елизавета Андреевна**, старший научный сотрудник, заведующая группой защиты растений БИН РАН, г. Санкт-Петербург, Россия; *e-mail: EVarfolomeeva@binran.ru*.

Cyst Nematodes: Biology, Distribution and Control. CAB International, Wallingford (GB), 1998, p. 271–298.

16. Whitworth J.L., Novy R.G., Zasada I.A., Wang X., Dandurand L.-M., Kuhl J.C. Resistance of Potato Breeding Clones and Cultivars to Three Species of Potato Cyst Nematode // Plant Disease. 2018. 102 (11). P. 2120–2128 [Electronic resource]. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30156963/2018> (last accessed: 12.06.2023).

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Elena Khudyakova**, Senior Researcher, Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: fer59@mail.ru*.

**Stella Sudarikova**, Senior Researcher, Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: sudarikovah@mail.ru*.

**Evgeny Butov**, Junior Researcher, Helminthology Laboratory of Testing Laboratory Center, FGBU “VNIKR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: kitsakbkl@gmail.com*.

**Elizaveta Varfolomeeva**, Senior Researcher, Head of Plant Protection Group, Komarov Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; *e-mail: EVarfolomeeva@binran.ru*.

Феромонные ловушки позволяют в короткие сроки и на больших территориях эффективно и оперативно выявлять очаги заражения насекомыми-вредителями, предотвращать их распространение и успешно бороться с ними.



## АССОРТИМЕНТ ФЕРОМОННЫХ ЛОВУШЕК

### ВРЕДИТЕЛИ ОВОЩНЫХ КУЛЬТУР

Азиатская хлопковая совка  
Восклицательная совка  
Дынная муха  
Западный кукурузный жук  
Западный цветочный (калифорнийский) трипс  
Зеленая садовая совка  
Капустная совка  
Картофельная моль  
Малая наземная совка  
Озимая совка  
Совка-ипсилон  
Хлопковая совка  
Червец Комстока  
Щелкун полосатый посевной  
Южноамериканская томатная моль

### ВРЕДИТЕЛИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР

Азиатская ягодная дроздофила  
Восточная плодовая  
Гроздевая листовертка  
Древесница вьедливая  
Калифорнийская щитовка  
Коричнево-мраморный клоп  
Новозеландская листовертка  
Персиковая плодовая  
Померанцевая щитовка  
Сливовая плодовая  
Смородиновая стеклянница  
Средиземноморская плодовая муха  
Тутовая щитовка  
Фруктовая полосатая моль  
Яблонная плодовая  
Яблонная муха

### ВРЕДИТЕЛИ ЗАПАСОВ

Амбарный долгоносик  
Большой мучной хрущак  
Зерновая огневка  
Зерновая моль  
Капровый жук  
Кукурузный долгоносик  
Мельничная огневка  
Платяная моль  
Рисовый долгоносик  
Трогодерма изменчивая  
Трогодерма черная  
Хлебный точильщик  
Хлопковая моль  
Хрущаки рода *Tribolium*  
Четырехпятнистая зерновка  
Южная амбарная огневка

### ВРЕДИТЕЛИ ЛЕСА

Азиатский усач  
Американская белая бабочка  
Американский коконопряд  
Гравер обыкновенный  
Золотистая двухпятнистая совка  
Каштановая минирующая моль  
Короед-типограф  
Лесной кольчатый шелкопряд  
Непарный шелкопряд  
Самшитовая огневка  
Сибирский шелкопряд  
Сосновая совка  
Сосновый шелкопряд  
Усачи рода *Monochamus*  
Шелкопряд-монашенка  
Шестизубый короед

# ЭКОЛОГИЯ И ЗАЩИТА



## ФЕРОМОНЫ СОВЕРШЕННО БЕЗОПАСНЫ ДЛЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ И ПЧЕЛ

ФГБУ «ВНИИКР» является крупнейшим производителем феромонной продукции на территории Российской Федерации. На сегодняшний день специалисты учреждения синтезируют феромоны более 70 видов насекомых вредителей, имеющих важное экономическое значение для РФ и государств СНГ.



## АССОРТИМЕНТ КЛЕЕВЫХ ЛОВУШЕК

НАИМЕНОВАНИЕ	ЦВЕТ	РАЗМЕР, м
Ловушка клеевая пластина	желтый, синий	0,05×0,12
Ловушка клеевая пластина	желтый, синий	0,25×0,10
Ловушка клеевая пластина	желтый, синий	0,25×0,30
Ловушка клеевая пластина	желтый	0,25×0,40
Ловушка клеевая рулон	желтый, синий	0,15×100
Ловушка клеевая рулон	желтый, синий	0,30×100



В ФГБУ «ВНИИКР» организована биолaborатория по производству шмелей вида *Bombus terrestris*.



**Использование шмелиных  
семей позволяет  
значительно увеличить  
рентабельность  
садоводческих  
и тепличных хозяйств**

**ПРИНИМАЕМ ЗАЯВКИ НА  
ПОСТАВКУ ШМЕЛИНЫХ СЕМЕЙ**



**ПОЗАБОТЬТЕСЬ О БЕЗОПАСНОСТИ УРОЖАЯ СЕГОДНЯ!**

По вопросам сотрудничества:  
ФГБУ «ВНИИКР»

140150, Московская обл., г. о. Раменский,  
р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32  
Тел.: +7 (499) 707-22-27 (доб. 1468; 1469; 2601)  
e-mail: sales@vniikr.ru



[www.shop.vniikr.ru](http://www.shop.vniikr.ru)



УДК 581.543

## Изучение сезонного развития паслена каролинского *Solanum carolinense* L. в условиях контролируемого опыта

\* ДЕМУШКИНА Л.Е.<sup>1</sup>,  
КУЛАКОВА Ю.Ю.<sup>2</sup>, КУЛАКОВ В.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Пятигорский филиал ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», г. Пятигорск, Ставропольский край, Россия, 357528

<sup>2,3</sup> ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

<sup>1</sup> ORCID 0009-0004-7940-3917,  
e-mail: demushkina.mila@yandex.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0002-7090-3139,  
e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

### АННОТАЦИЯ

Паслен каролинский *Solanum carolinense* L. – инвазивный вид североамериканского происхождения. Это многолетнее вегетативно-подвижное растение, которое быстро колонизирует новые территории. Засоряет посевы сои, кукурузы, пшеницы, а также сады, пастбища и необрабатываемые земли. Источником расселения паслена каролинского в мире являются засоренные его семенами партии продовольственных грузов из стран, где он широко распространен. Сорняк чрезвычайно засухоустойчив за счет мясистых сочных корней, глубоко проникающих в почву; теневынослив, хотя предпочитает освещенные местообитания; может расти в различных типах почв, выдерживает затопление. Тем не менее его подземные органы чувствительны к низким положительным температурам и не выдерживают отрицательных температур. Это ограничивает его продвижение в северные регионы и в гористые местности. В последние десятилетия в европейских странах зарегистрированы новые случаи обнаружения паслена каролинского в посевах различных культур, вдоль дорог, вблизи портовых территорий. Специалистами Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) был проведен анализ фитосанитарного риска, по результатам которого паслен каролинский был включен в список карантинных организмов ЕОКЗР в статусе ограниченно присутствующего вида (EPPO..., 2022). На территории Российской Федерации этот вид отсутствует, но имеет статус карантинного объекта, так как существует высокий риск его проникновения из соседних государств (например, из Грузии) или при ввозе импортного семенного материала кукурузы, сои, пшеницы (Москаленко, 2001). В условиях происходящих глобальных климатических изменений остро возникает вопрос, в каких широтах может акклиматизироваться паслен каролинский на территории Российской Федерации. Изучению

UDC 581.543

## Study of seasonal development of *Solanum carolinense* L. under controlled experimental conditions

\* LUDMILA E. DEMUSHKINA<sup>1</sup>,  
YULIANA YU. KULAKOVA<sup>2</sup>, VITALY G. KULAKOV<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pyatigorsk Branch of the Federal State Budgetary Institution “All-Russian Plant Quarantine Center”, Pyatigorsk, Stavropol Krai, Russia, 357528

<sup>2,3</sup> FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNI IKR”), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

<sup>1</sup> ORCID 0009-0004-7940-3917,  
e-mail: demushkina.mila@yandex.ru

<sup>2</sup> ORCID 0000-0002-9973-7584, e-mail: thymus73@mail.ru

<sup>3</sup> ORCID 0000-0002-7090-3139,  
e-mail: vitaliyk2575@mail.ru

### ABSTRACT

*Solanum carolinense* L., Carolina horsenettle, is an invasive species of North American origin. This is a perennial vegetatively mobile plant quickly colonizing new territories. It contaminates soybean, corn, wheat crops, as well as gardens, pastures and uncultivated lands. Its main pathway is food shipments contaminated with its seeds from countries where it is widespread. The weed is extremely drought-resistant due to its fleshy, succulent roots that penetrate deeply into the soil; shade-tolerant, although prefers illuminated habitats. It grows in various soil types, and can withstand flooding. However, its underground organs are sensitive to low positive temperatures and cannot withstand negative temperatures. This limits its advance to the northern regions and mountainous areas. In recent decades, new detection cases of Carolina horsenettle have been registered in European countries in various crops, along roads, near port areas. Specialists from the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) conducted a pest risk analysis, as a result of which Carolina horsenettle was included in the EPPO list of quarantine pests with the status of a limitedly present species (EPPO..., 2022). This species is absent in the Russian Federation, though has the status of a quarantine pest, since there is a high risk of its introduction from neighboring countries (for example, from Georgia) or when importing corn, soybean, and wheat seeds (Moskalenko, 2001). In the context of ongoing global climate change, the question arises in what latitudes can Carolina horsenettle can adapt on the territory of the Russian Federation. This article is

особенностей роста и развития этого вида в условиях контролируемого опыта посвящена данная статья.

**Ключевые слова.** Карантин растений, фитосанитарные риски, инвазионный вид, *Solanum*, фенология, семенная продуктивность.

**ВВЕДЕНИЕ**



Паслен каролинский *Solanum carolinense* L. – многолетнее корнеотпрысковое растение, у которого из придаточных почек на главных и боковых корнях развиваются надземные побеги – корневые отпрыски, служащие для вегетативного размножения (см. рис. 1). В благоприятных условиях растения могут достигать до 1,2 м в высоту, развивают мощную систему утолщенных корней, проникающих на глубину более 3 м (Ilnicki et al., 1962). Стебли, листья, чашечка цветка несут крепкие желтые колючки и усажены звездчатыми волосками. Листья цельные, очередные, на коротких черешках, перисто-лопастные. Цветки обоеполые, актиноморфные, собраны в верхней части растения в соцветия-завитки. Окраска лепестков может быть белой, голубоватой или сиреневой. Плоды-ягоды достигают около 1–2 см в диаметре; незрелые плоды отличаются характерной полосатой окраской с более темными зелеными полосками, при созревании ягоды становятся желтыми с кожистым околоплодником. Семена 2–3 мм в диаметре, округло-овальные, сжатые с боков, желтого или коричневого цвета с мелкобугорчатой маслянистой поверхностью.

Паслен каролинский является аборигенным видом Северной Америки. На территории Соединенных Штатов этот вид встречается во всех штатах, кроме Невады, Вайоминга, Монтаны, Северной Дакоты, Гавайев, Аляски, причем в семи штатах США паслен считается вредоносным (Darlington, 1847; Wahlert et al., 2015). Его также можно найти в самых южных частях Канады (Квебек, Онтарио) и в Новой Шотландии (Bassett, Munro, 1986; VASCAN, 2021).

Распространение вида в Центральной (Мексика, Гаити) и Южной Америке не подтверждено и отрицается рядом авторов (Martínez et al., 2017; Wahlert et al., 2015; Stehmann et al., 2015).

В ходе развития торговых отношений и непреднамеренной интродукции паслен каролинский стал распространяться на другие континенты (см. рис. 2 и таблицу).

На территории Европейского континента *S. carolinense* распространен в 15 странах, где отмечен вблизи портов, обочин дорог и по берегам рек, в полях кукурузы и недалеко от животноводческих ферм (САВИ, 2021). В 2022 г. специалистами ЕОКЗР при участии научных сотрудников

devoted to the study of the growth and development characteristics of this species under controlled experimental conditions.

**Key words.** Plant protection, pest risks, invasive species, *Solanum*, phenology, seed productivity.

**INTRODUCTION**

**S***olanum carolinense* L. is a perennial root-sprouting plant in which above-ground shoots develop from adventitious buds on the main and lateral roots – root shoots, which serve for vegetative propagation (see Fig. 1). In favorable conditions, plants can reach up to 1.2 m in height and develop a powerful system of thickened roots that penetrate to a depth of more than 3 m (Ilnicki et al., 1962). The stems, leaves, and calyx of the flower bear strong yellow spines and are lined with star-shaped hairs. The leaves are entire, alternate, on short petioles, pinnately lobed. The flowers are bisexual, actinomorphic, collected in the upper part of the plant in curlicue inflorescences. The color of the petals can be white, bluish or lilac. The fruits are berries about 1–2 cm in diameter; unripe fruits have a characteristic striped color with darker green stripes; when ripe, the berries become yellow with a leathery pericarp.



*Solanum carolinense* (Horse-nettle)

**Рис. 1.** Общий облик паслена каролинского (из книги Runnels H.A., Schaffner J.H. Manual of Ohio Weeds, 1931, p. 73)

**Fig. 1.** General appearance of Carolina horsenettle (from the book Runnels H.A., Schaffner J.H. Manual of Ohio Weeds, 1931, p. 73)

ФГБУ «ВНИИКР» был проведен анализ фитосанитарного риска для паслена каролинского и принято решение о включении его в список карантинных организмов ЕОКЗР в статусе ограниченно присутствующего вида (A2). Причиной проведения данного анализа стали новые обнаружения сорняка на территории стран Европы. Основным вектором переноса паслена каролинского на современном этапе были признаны засоренные партии пшеницы, кукурузы, сои, импортируемые из стран распространения сорняка (EPPO..., 2022).

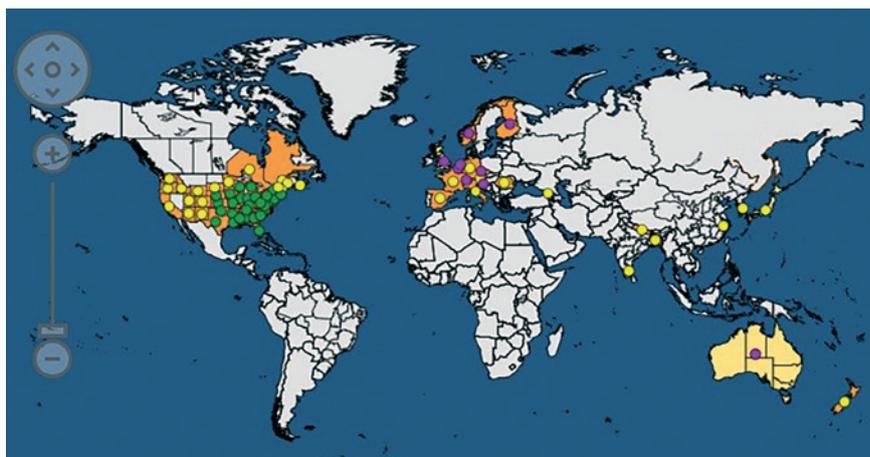
Паслен каролинский обладает высокой конкурентоспособностью по сравнению с другими видами растений и трудно поддается контролю на полях и пастбищах, быстро размножается вегетативно (отрезками корней), а также семенным путем (Todua, 1975). *S. carolinense* является хозяином многих насекомых, грибов и вирусов, которые могут быть опасны для сельскохозяйственных растений. В силу того, что искоренение данного вида в местах внедрения весьма обременительно и затратно, используются превентивные меры по предотвращению его заноса и расселения. Одна из них – внесение вида в карантинные перечни.

Паслен каролинский включен в карантинные перечни Чили, Мексики, Израиля, Иордании, Узбекистана, Азербайджана, Грузии и стран ЕАЭС (<https://www.ippc.int/ru>).

В СССР паслен каролинский неоднократно регистрировали на Дальнем Востоке как заносный вид (Буч, Швыдка, 1981). Это были находки единичных растений рядом с территорией портов и животноводческих ферм по разведению крупного рогатого скота и свиней, которые получали жмых импортной сои, засоренный семенами паслена каролинского, на корм животным. Карантинная служба Приморья успешно ликвидировала все эти мелкие очаги.

На современном этапе официальные сведения о фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации и анализ флористических данных подтверждают факты отсутствия сорняка на территории страны (Kozhevnikov et al., 2019; Vinogradova et al., 2020). С учетом вредоносности данного вида для сельского хозяйства *S. carolinense* по-прежнему сохраняет статус карантинного объекта Единого перечня карантинных объектов ЕАЭС.

До сих пор научно не обоснован прогнозируемый потенциальный ареал этого вида, и особенно его северная граница. Известно, что основной ареал сорняка на территории США расположен между 30° и 45° северной широты. Паслен каролинский тепло- и светолюбив, быстро растет в жаркую погоду (Innick et al., 1962). Сорняк чрезвычайно засухоустойчив за счет мясистых, сочных корней, проникающих в почву на глубину более 3 м (Bradbury,



**Рис. 2.** Современное распространение *Solanum carolinense* L. в мире (зеленые точки – обнаружения вида в естественном ареале, желтые точки – обнаружения вида во вторичном ареале, лиловым цветом выделены эфемерные популяции вида) (по <https://gd.eppo.int/taxon/SOLCA/distribution> с изменениями)

**Fig. 2.** Current distribution of *Solanum carolinense* L. in the world (green dots – detection of the species in its natural range, yellow dots – detection of the species in the secondary range, ephemeral populations of the species are highlighted in purple) (from <https://gd.eppo.int/taxon/SOLCA/distribution>, with changes)

Seeds 2–3 mm in diameter, round-oval, laterally compressed, yellow or brown in color with a finely tuberculous oily surface.

Carolina horsenettle is a native North American species. In the United States, this species occurs in all states except Nevada, Wyoming, Montana, North Dakota, Hawaii, and Alaska, and in seven US states it is considered harmful (Darlington, 1847; Wahlert et al., 2015). It can also be detected in the southernmost parts of Canada (Quebec, Ontario) and Nova Scotia (Bassett, Munro, 1986; VASCAN, 2021).

The distribution of the species in Central (Mexico, Haiti) and South America has not been confirmed and is denied by some authors (Martínez et al., 2017; Wahlert et al., 2015; Stehmann et al., 2015).

As trade relations developed and unintentional introductions, Carolina horsenettle began to spread to other continents (see Fig. 2 and Table).

On the European continent, *S. carolinense* is distributed in 15 countries, where it is recorded near ports, roadsides and river banks, in corn fields and near livestock farms (CABI, 2021). In 2022, EPPO specialists, with the participation of FGBU “VNIICR” researchers, analyzed the pest risk for Carolina horsenettle and decided to include it in the EPPO list of quarantine pests in the status of a limitedly present species (A2). The reason for this analysis was new detections of the weed in European countries. The main pathway of Carolina horsenettle at the present stage was recognized as contaminated consignments of wheat, corn, and soybeans imported from countries where the weed is distributed (EPPO..., 2022).

Carolina horsenettle is highly competitive compared to other plant species and is difficult to control in fields and pastures; it quickly reproduces vegetatively (by root cuttings) and also by seed (Todua, 1975).

**Таблица. Распространение *Solanum carolinense* L. в странах мира (<https://gd.eppo.int/>)**  
**Table. Distribution of *Solanum carolinense* L. around the world (<https://gd.eppo.int/>)**

Страна	Распространение, регион	Country	Distribution, region	Литературные ссылки References
<b>СЕВЕРНАЯ АМЕРИКА</b>		<b>NORTH AMERICA</b>		
Канада	присутствует	Canada	present	Bassett, Munro, 1986; VASCAN, 2021
США	присутствует	USA	present	USDA, 2001; Wahlert et al., 2015
<b>ЦЕНТРАЛЬНАЯ И ЮЖНАЯ АМЕРИКА</b>		<b>CENTRAL AND SOUTH AMERICA</b>		
Мексика	отсутствует ныне	Mexico	now absent	D'Arcy, 1974; Wahlert et al., 2015
Гаити	отсутствует ныне	Haiti	now absent	D'Arcy, 1974; Wahlert et al., 2015
Бразилия	отсутствует ныне	Brazil	now absent	D'Arcy, 1974; Wahlert et al., 2015
<b>ЕВРОПА</b>		<b>EUROPE</b>		
Австрия	присутствует	Austria	present	Follak, 2020
Бельгия	локально присутствует	Belgium	locally present	Manual of Alien Plants of Belgium, 2021
Хорватия	локально присутствует	Croatia	locally present	Milović, Mitić, 2012
Чешская Республика	локально присутствует	Czech Republic	locally present	Pyšek et al., 2012
Финляндия	локально присутствует	Finland	locally present	FinBIF, 2021
Франция	присутствует	France	present	G. Fried, pers. communication, 2021
Германия	присутствует	Germany	present	Junghans, 2013
Грузия	присутствует	Georgia	present	Aleksidze et al., 2021
Италия	присутствует	Italy	present	Portal to the Flora of Italy, 2021
Нидерланды	локально присутствует	Netherlands	locally present	Dirkse et al., 2007
Норвегия	локально присутствует	Norway	locally present	Ouren, 1987
Румыния	присутствует	Romania	present	Anastasiu et al., 2011
Испания	присутствует	Spain	present	Pérez et al., 2020
Швейцария	локально присутствует	Switzerland	locally present	Brodbeck, Huber, 1988
Украина	отсутствует ныне	Ukraine	now absent	Burda, 2018
Великобритания	локально присутствует	Great Britain	locally present	Stace, 2019
<b>АЗИЯ</b>		<b>ASIA</b>		
Япония	присутствует	Japan	present	Miyazaki et al., 2005
Индия	присутствует	India	present	Kosaka et al., 2010
Южная Корея	присутствует	South Korea	present	Ryu et al., 2017
Бангладеш	присутствует	Bangladesh	present	Mandal et al., 2014
Китай	присутствует	China	present	Li et al., 2006
Непал	отсутствует ныне	Nepal	now absent	Holm et al., 1979; but not mentioned in the Annotated Checklist of the Flowering Plants of Nepal, 2021
<b>ОКЕАНИЯ</b>		<b>OCEANIA</b>		
Австралия	отсутствует ныне	Australia	now absent	Auld, 2003
Новая Зеландия	присутствует	New Zealand	present	Webb et al., 1988

Aldrich, 1957). В искусственных опытах было показано, что длительная отрицательная температура грунта является критичной для появления новых корневых отпрысков (Basset, Mundo, 1986). По мнению авторов, это может объяснить, почему северная граница распространения паслена в Канаде проходит по Южному Онтарио, где отмечено проникновение корней на глубину более 1 м, то есть ниже линии промерзания почвы зимой. Таким образом, главным сдерживающим фактором в продвижении сорняка в северные широты, по-видимому, будут низкие температуры в зимний период. Учитывая, что экологические предпочтения вида и занимаемые им местообитания изучены недостаточно полно, необходимо оценить адаптивный потенциал этого вида применительно к природно-климатическим условиям России.

Целью исследования являлось изучение сезонного развития паслена каролинского в условиях умеренно континентального климата Ставропольского края.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Семена паслена каролинского были собраны научными сотрудниками ФГБУ «ВНИИКР» К.А. Гребенниковым и С.Ю. Мухановым в Республике Абхазии в сентябре 2019 г. Географические координаты места сбора: 42.632001 N, 41.645932 E.

В 2021 г. семена паслена каролинского были пророщены в карантинной теплице ФГБУ «ВНИИКР» (р. п. Быково, Московская обл.). В апреле того же года 2-месячную рассаду высадили в посадочные бетонные кольца карантинного участка Пятигорского филиала ФГБУ «ВНИИКР».

Карантинно-интродукционный участок был построен в 2012 г., представляет собой прямоугольник со сторонами 9 x 22 м и состоит из 24 колец. Внутри участка находятся вкопанные в землю лизиметры – бетонные посадочные кольца, представляющие собой спарку из двух железобетонных колец диаметром 1000 мм и высотой 900 мм, установленных друг на друга. Кольца находятся на расстоянии 1 м друг от друга. Пространство между лизиметрами покрыто 0,5-метровым слоем песка и 0,1-метровым слоем керамзита. Участок обнесен по периметру поликарбонатным ограждением высотой 2,5 м, стены выше забора и крыша затянуты мелкоячеистой металлической сеткой с ячейками 2 x 2 см, предотвращающей проникновение птиц. На территории участка есть крематор для сжигания растительных остатков (см. рис. 3).

Фенологические наблюдения проводили с конца мая до конца октября в течение 2021–2023 гг. с интервалом в 7–10 дней согласно общепринятым методикам (Методика фенологических..., 1975; Куприянов, 2013). Регистрировали даты и продолжительность прохождения основных фаз развития растений: отрастание, вегетация, бутонизация, цветение, плодоношение и фаза отмирания надземных побегов. Определение общей семенной продуктивности проводили весовым методом. Жизнеспособность семян определяли посредством окрашивания зародышей 1-процентным раствором хлористого тетразолия (Методические..., 2014).

*S. carolinense* is the host of many insects, fungi and viruses that can be harmful to crop plants. Due to the fact that the eradication of this species in places of introduction is very difficult and costly, preventive measures are used to inhibit its introduction and spread. One of them is adding the species to quarantine lists.

Carolinian horsenettle is included in the quarantine lists of Chile, Mexico, Israel, Jordan, Uzbekistan, Azerbaijan, Georgia and the EAEU countries (<https://www.ippc.int/ru>).

In the USSR, Carolina horsenettle was repeatedly recorded in the Far East as an alien species (Buch, Shvydkaya, 1981). These were the finds of single plants near the territory of ports and livestock farms for breeding cattle and pigs, which received imported soybean cake, contaminated with Carolina horsenettle seeds, for animal feed. The quarantine service of Primorye successfully eliminated all these small outbreaks.

Currently, official information on the phytosanitary state of the Russian Federation and analysis of floristic data confirm the absence of the weed in the country (Kozhevnikov et al., 2019; Vinogradova et al., 2020). Taking into account the harmfulness of this species for agriculture, *S. carolinense* still retains the status of a quarantine pest in the EAEU Common List of Quarantine Pests.

The predicted potential range of this species, and especially its northern border, has not yet been scientifically substantiated. It is known that the main habitat of the weed in the United States is located between 30° and 45° north latitude. Carolina horsenettle is heat- and light-loving and grows quickly in hot weather (Innicki et al., 1962). The weed is extremely drought-resistant due to its fleshy, succulent roots that penetrate the soil to a depth of more than 3 m (Bradbury and Aldrich, 1957). In artificial experiments it was shown that long-term negative soil temperature is critical for the emergence of new root shoots (Basset, Mundo, 1986). According to the authors, this may explain why the northern limit of its distribution in Canada lies in southern Ontario, where root penetration to a depth of more than 1 m has been noted, that is, below the frost line of the soil in winter. Thus, the main limiting factor in the advancement of the weed to northern latitudes will apparently be low temperatures in winter. Considering that the ecological preferences of the species and the habitats it occupies have not been fully studied, it is necessary to assess the adaptive potential of this species in relation to the natural and climatic conditions of Russia.

The purpose of the study was to study the seasonal development of Carolina horsenettle in the temperate continental climate of Stavropol Krai.

### MATERIALS AND METHODS

*S. carolinense* seeds were collected by the FGBU “VNIKR” researchers K.A. Grebennikov and S.Yu. Mukhanov in the Republic of Abkhazia in September 2019. Geographic coordinates of the collection site: 42.632001 N, 41.645932 E.



**Рис. 3.** Общий вид карантинного участка Пятигорского филиала ФГБУ «ВНИИКР» (фото Л.Е. Демусхиной)

**Fig. 3.** General view of the quarantine area of the Pyatigorsk branch of FGBU “VNIICR” (photo by L.E. Demushkina)

Проводили опыты по изучению темпов нарастания массы корневой системы паслена каролинского. Для этого в отдельные горшки объемом 7 л высаживали отрезки корней паслена каролинского по 2,5 см длиной и 0,5–0,6 см толщиной на глубину 5–7 см в 5-кратной повторности. Предварительно определяли массу каждого отрезка корня на технических весах, которая составила в среднем  $0,67 \pm 0,02$  г.

Климатические особенности региона исследования характеризуются следующими параметрами. Пятигорск расположен в предгорьях Главного Кавказского хребта. Для региона характерен умеренно континентальный, степной климат с мягкой зимой и жарким летом, без резких колебаний годовых и суточных температур, с умеренным количеством осадков, около 500 мм/год, главным образом в апреле – октябре. Наибольшая относительная влажность – в декабре (80%), наименьшая – в июле (54%). Зима умеренно мягкая, длится 2–3 месяца. Морозные дни и снежный покров держатся от нескольких дней до 1–3 недель. Средняя температура июля составляет  $+22$  °С, но может подниматься до  $+40$  °С. Температура в зимний период колеблется в диапазоне от 0 до  $-4$  °С с редкими морозами до  $-20$  °С. Среднегодовое количество осадков – 861 мм. Наибольшее количество осадков приходится на май – июнь. Количество солнечных дней в году – 73. Господствуют восточные и юго-восточные ветры, средняя скорость которых составляет 2,5 м/с (по данным сайта <https://ru.wikipedia.org/>).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первый год наблюдений (2021) растения паслена каролинского хорошо развивались, высота побегов была в среднем 110 см. Первые цветки на растениях появились 5 июля; цветение продолжалось около двух месяцев. Несмотря на обильное цветение и наличие опылителей, к концу сезона завязалось только 2 плода. В конце вегетационного периода часть растений была оставлена в кольцах участка на зиму для оценки способности возобновляться от корней на следующий год.

In 2021, Carolina horsenettle seeds were germinated in the quarantine greenhouse of FGBU “VNIICR” (Bykovo, Moscow Oblast). In April 2021, 2-month-old seedlings were planted in concrete planting rings of the quarantine site of the Pyatigorsk branch of FGBU “VNIICR”.

The quarantine-introduction site was built in 2012; it is a rectangle with sides 9 x 22 m and consists of 24 rings. Inside the site there are lysimeters dug into the ground – concrete planting rings, which are a pair of two reinforced concrete rings with a diameter of 1000 mm and a height of 900 mm, installed on top of each other. The rings are 1 m apart. The space between the lysimeters is covered with a 0.5-meter layer of sand and a 0.1-meter layer of expanded clay. The site is surrounded around the perimeter by a polycarbonate fence 2.5 m high, the walls above the fence and the roof are covered with fine-mesh metal mesh with 2 x 2 cm cells, which prevents the penetration of birds. There is a cremator on the site for burning plant residues (see Fig. 3).

Phenological observations were carried out from the end of May to the end of October during 2021–2023, with an interval of 7–10 days according to generally accepted methods (Methods of phenological..., 1975; Kupriyanov, 2013). The dates and duration of plant development main phases were recorded: regrowth, vegetation, budding, flowering, fruiting and the phase of death of above-ground shoots. The determination of total seed productivity was carried out by the weight method. The viability of seeds was determined by staining the embryos with a 1% solution of tetrazolium chloride (Guidelines..., 2014).

Experiments were conducted to study the rate of *S. carolinense* root system mass increase. To do this, *S. carolinense* root pieces of 2.5 cm long and 0.5–0.6 cm thick to a depth of 5–7 cm were planted in separate 7-liter pots in 5-fold repetition. The mass of each root segment was preliminarily determined on technical scales, which averaged  $0.67 \pm 0.02$  g.

The climatic features of the study region are characterized by the following parameters. Pyatigorsk is located in the foothills of the Main Caucasus Range. The region is characterized by a moderate continental, steppe climate with mild winters and hot summers, without sharp fluctuations in annual and daily temperatures, with moderate precipitation, about 500 mm/year, mainly in April – October. The highest relative humidity is in December (80%), the lowest is in July (54%). Winter is moderately mild, lasting 2–3 months. Frosty days and snow cover last from several days to 1–3 weeks. The average July temperature is  $+22$  °С, but can rise to  $+40$  °С. Temperatures in winter range from 0 to  $-4$  °С with rare frosts down to  $-20$  °С. The average annual precipitation is 861 mm. The greatest amount of precipitation occurs in May – June. The number of sunny days per year is 73. Eastern and southeastern winds prevail, the average speed of which is 2.5 m/s (according to the website <https://ru.wikipedia.org/>).



**Рис. 4.** Корневая система трех растений *S. carolinense*, сформированная за 1 вегетационный период (фото Л.Е. Демушкиной)

**Fig. 4.** The root system of three *S. carolinense* plants formed during 1 growing season (photo by L.E. Demushkina)

Небольшую часть корней выкопали и перенесли в емкость с землей; эта емкость хранилась при низкой положительной температуре в помещении. При выкапывании корней установлено, что они достигали глубины 35–40 см и были около 1 см толщиной (см. рис. 4, 5).

На следующий год появление новых побегов паслена каролинского от корней, перезимовавших в кольце лизиметра, наблюдали 18 мая (см. рис. 6).

Растения хорошо развивались, чему способствовали благоприятные погодные условия в 2022 г. (см. рис. 7, 8).

14 июня на этих побегах появились бутоны, а 22 июня – раскрылись первые цветки (см. рис. 9). Период цветения продолжался более двух месяцев (82 дня). Первые завязавшиеся плоды были зафиксированы 25 июля. Весь июль и август продолжался период цветения и формирования новых плодов (см. рис. 10, 11). Окончание цветения наблюдали во второй половине сентября. Сброс



**Рис. 6.** Появление корневых отростков весной 2022 г. от перезимовавших растений *S. carolinense* (фото Л.Е. Демушкиной)

**Fig. 6.** The appearance of root suckers in the spring of 2022 from overwintered *S. carolinense* plants (photo by L.E. Demushkina)



**Рис. 5.** Толщина скелетного корня *S. carolinense* (фото Л.Е. Демушкиной)

**Fig. 5.** *S. carolinense* main root thickness (photo by L.E. Demushkina)

## RESULTS AND DISCUSSION

In the first year of observations (2021), *S. carolinense* plants developed well, the shoot height was on average 110 cm. The first flowers appeared on the plants on July 5; flowering lasted about two months. Despite abundant flowering and the presence of pollinators, only 2 fruits were set by the end of the season. At the end of the growing season, some of the plants were left in the rings of the plot for the winter to assess the ability to regenerate from the roots the next year. A small part of the roots was dug up and transferred to a container with soil; this container was stored at a low positive room temperature. When digging up the roots, it was found that they reached a depth of 35–40 cm and were about 1 cm thick (see Fig. 4, 5).

The next year, the emergence of new *S. carolinense* shoots from roots that overwintered in the lysimeter ring was observed on May 18<sup>th</sup> (see Fig. 6).

The plants developed well, which was facilitated by favorable weather conditions in 2022 (see Fig. 7, 8).

On June 14<sup>th</sup>, buds appeared on these shoots, and on June 22<sup>nd</sup>, the first flowers opened (see Fig. 9). The flowering period lasted more than 2 months (82 days). The first fruits set were recorded on July 25<sup>th</sup>. The period of flowering and formation of new fruits continued throughout July and August (see Fig. 10, 11). The end of flowering was observed in the second half of September. The shedding of leaves and complete death of above-ground shoots was recorded at the end of October with the onset of the first frosts.

An analysis of the *S. carolinense* regeneration experience from small root parts showed that each root segment formed 1 above-ground generative shoot during the season. The flowering period of such shoots ranged from 1 to 7 weeks. Fruits set on only two shoots. The root mass that one plant formed in one growing season from a small root fragment 2.5 cm long was on average 14 times greater than the original, and amounted to  $9.5 \pm 0.2$  g.

листьев и полное отмирание надземных побегов фиксировали в конце октября с наступлением первых заморозков.

Анализ опыта по возобновлению паслена каролинского из небольших частей корня показал, что каждый корневой отрезок за сезон сформировал 1 надземный генеративный побег. Продолжительность цветения таких побегов составила от 1 до 7 недель. Плоды завязались только на двух побегах. Масса корней, которую сформировало одно растение за один вегетационный сезон из небольшого фрагмента корня длиной 2,5 см, была в среднем в 14 раз больше изначальной и составила  $9,5 \pm 0,2$  г.

Кроме того, из 50-сантиметрового слоя почвы была извлечена корневая система двулетнего растения паслена, высаженного в 2021 г. Длина корней составляла чуть более 1 м, причем большая часть из них была представлена утолщенными скелетными корнями толщиной около 1 см (см. рис. 12).

В 2023 г. были продолжены фенологические наблюдения за развитием паслена каролинского. Отрастание новых побегов от корней наблюдали 10 мая 2023 г., что на 8 дней раньше, чем в 2022 г. Разница в наступлении отрастания является реакцией растения на температурный фактор и прогрев почвы. Первые цветки раскрылись 20 июня, то есть практически в те же сроки, что и в 2022 г. Продолжительность цветения составила около 2,5 месяца.

К сожалению, 3-летний период наблюдений не позволяет статистически подтвердить связь сроков цветения с суммой эффективных



Рис. 7. Рост *S. carolinense* в начале лета (фото Л.Е. Демушкиной)

Fig. 7. *S. carolinense* growth in early summer (photo by L.E. Demushkina)



Рис. 8. *S. carolinense* в стадии бутонизации (фото Л.Е. Демушкиной)

Fig. 8. *S. carolinense* in the budding stage (photo by L.E. Demushkina)

Besides, the root system of a biennial *S. carolinense* plant, planted in 2021, was extracted from a 50-centimeter layer of soil. The roots were slightly more than 1 m in length, most of which were thickened skeletal roots about 1 cm thick (see Fig. 12).

In 2023, phenological observations of the *S. carolinense* development were continued. The growth of new shoots from the roots was observed on May 10, 2023, which is 8 days earlier than in 2022. The difference in the onset of regrowth is the plant's response to the temperature factor and soil warming. The first flowers opened on June 20, that is, almost at the same time as in 2022. The duration of flowering was about 2.5 months.

Unfortunately, a 3-year observation period does not allow to statistically confirm the relationship between the timing of flowering and the sum of effective temperatures, nevertheless, the presence of seasons with contrasting weather conditions makes



Рис. 9. Цветение *S. carolinense* (фото Л.Е. Демушкиной)

Fig. 9. Bloom of *S. carolinense* (photo by L.E. Demushkina)



Рис. 10. Незрелые плоды *S. carolinense* (фото Л.Е. Демушкиной)

Fig. 10. *S. carolinense* unripe fruits (photo by L.E. Demushkina)



Рис. 11. Зрелые плоды *S. carolinense* (фото Л.Е. Демушкиной)

Fig. 11. *S. carolinense* ripe fruits (photo by L.E. Demushkina)

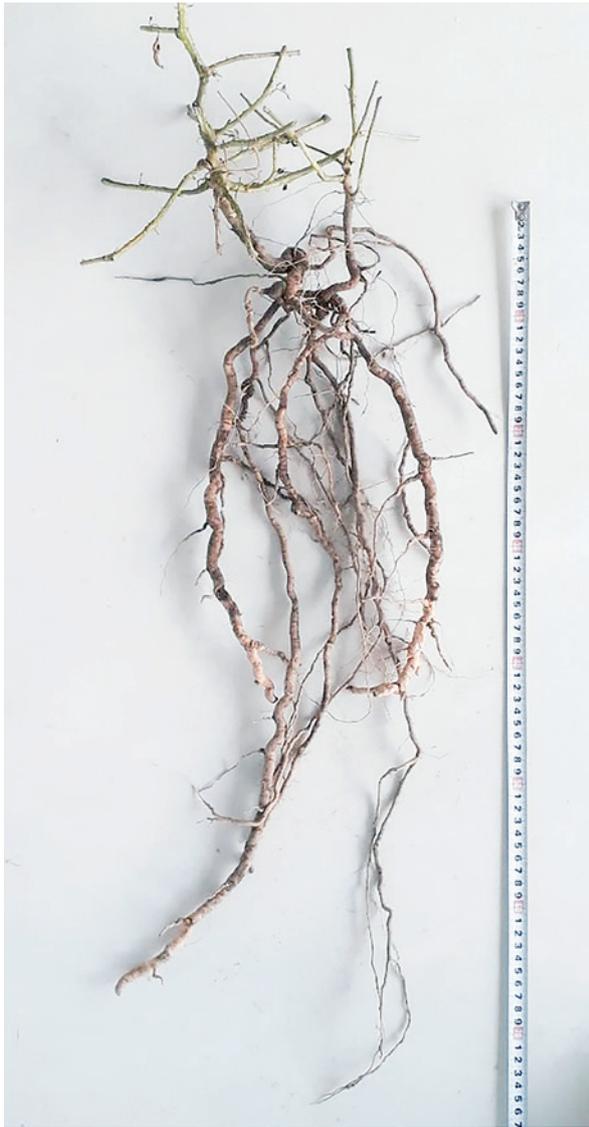


Рис. 12. Корневая система двулетнего растения *S. carolinense* (фото Ю.Ю. Кулаковой)

Fig. 12. *S. carolinense* biennial plant root system (photo by Yu.Yu. Kulakova)

температур, но тем не менее наличие сезонов с контрастными погодными условиями дает возможность предполагать эту зависимость. Основные фенофазы паслена каролинского в период 2021–2023 гг. отражены на рис. 13.

На растениях паслена каролинского в период вегетации наблюдали различных насекомых, которые им питались: личинки и имаго *Leptinotarsa decemlineata*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Metcalfa pruinosa* (см. рис. 14, 15). Во второй половине лета листья растения поражались грибными заболеваниями (*Alternaria* sp., *Fusarium* sp.), а плоды повреждались личинками совок.

Для оценки возможного семенного возобновления паслена каролинского анализировали число завязавшихся плодов и жизнеспособность семян по годам. В 2021 г. завязалось только 2 плода, несмотря на обильное цветение и присутствие опылителей. Семена имели низкую жизнеспособность (10%). Проведенный через 3 месяца анализ

it possible to assume this relationship. Main *S. carolinense* phenophases in the period 2021–2023 are shown in Fig. 13.

During the growing season, various insects were observed on *S. carolinense* plants that fed on them: *Leptinotarsa decemlineata*, *Trialeurodes vaporariorum*, *Metcalfa pruinosa* larvae and adults (see Fig. 14, 15). In the second half of summer, the leaves were affected by fungal diseases (*Alternaria* sp., *Fusarium* sp.), and the fruits were damaged by *Noctuidae* larvae.

To assess the possible *S. carolinense* seed regeneration, the number of fruits set and seed viability were analyzed by year. In 2021, only 2 fruits set, despite abundant flowering and the presence of pollinators. The seeds had low viability (10%). An analysis carried out after 3 months showed that already 30% of the seeds were viable, which indicated the ripening of the embryos during seed storage. In 2022, the number of fruits was significantly higher. By September 20<sup>th</sup>, the fruits had acquired a rich yellow color, which indicated their partial maturity. 468 fruits were formed on 27 shoots. The number of fruits varied from 1 to 93 exemplar (exm.) per shoot, which averaged  $9 \pm 1.5$  fruits/shoot. The fruit sizes varied in the range of 0.8–1.7 cm. The number of seeds in 1 fruit was on average about 70 exm. (see Fig. 16). The weight of 1000 seeds was  $1.321 \pm 0.01$  g (see Fig. 16).

To study the possibilities of *S. carolinense* seed regeneration, a field experiment was carried out: 100 seeds from the 2022 harvest were sown in a lysimeter ring in November of that year. Based on the results of spring observations in 2023, the seeds did not produce a single seedling, which indicates either the immaturity of the seeds at the time of the first frost in 2022, or the absence of the conditions necessary for germination in the field environment.

### CONCLUSION

A study of the *Solanum carolinense* L. seasonal development carried out under controlled experimental conditions on the territory of the Pyatigorsk quarantine-introduction site in 2021–2023 showed a significant

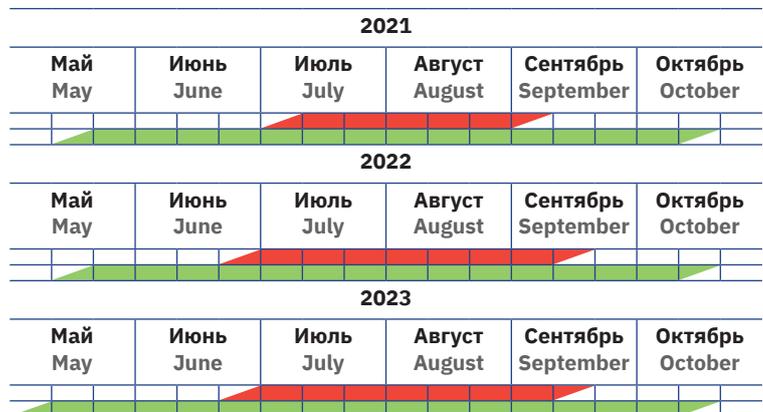


Рис. 13. Феноспектры сезонного развития *S. carolinense* (красным цветом показан период цветения, зеленым – период вегетации)

Fig. 13. Phenoscopes of *S. carolinense* seasonal development (red indicates the flowering period; green indicates the growing season)



**Рис. 14.** Имаго *Leptinotarsa decemlineata* на паслене каролинском (фото Л.Е. Демушкиной)

**Fig. 14.** *Leptinotarsa decemlineata* imago on *S. carolinense* (photo by L.E. Demushkina)

показал, что уже 30% семян были жизнеспособными, что свидетельствовало о дозревании зародышей в процессе хранения семян. В 2022 г. количество плодов было значительно больше. К 20-м числам сентября плоды приобрели насыщенный желтый цвет, что свидетельствовало об их частичной зрелости. На 27 побегах сформировалось 468 плодов. Количество плодов варьировало от 1 до 93 шт. на побег, что в среднем составило  $9 \pm 1,5$  плода/побег. Размеры плодов варьировали в диапазоне 0,8–1,7 см. Число семян в 1 плоде было в среднем около 70 шт. (см. рис. 16). Вес 1000 семян составил  $1,321 \pm 0,01$  г (см. рис. 16).

Для изучения возможности семенного возобновления паслена каролинского был заложен полевой опыт: в кольцо лизиметра было посеяно 100 шт. семян урожая 2022 г. в ноябре того же года. По итогам весенних наблюдений в 2023 г. семена не дали ни одного проростка, что свидетельствует либо о незрелости семян на момент наступления первых заморозков в 2022 г., либо об отсутствии необходимых для прорастания условий в полевой обстановке.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение сезонного развития *Solanum carolinense* L., проведенное в условиях контролируемого опыта на территории карантинно-интродукционного участка в г. Пятигорска в 2021–2023 гг., показало значительную адаптацию этого вида к новым для него природно-климатическим условиям.

Растения ежегодно возобновлялись за счет корневых отпрысков. За вегетационный период они формировали плотные сомкнутые заросли, образовывали большое число цветущих побегов, которые продолжительно цвели (2–2,5 месяца); плоды созревали к середине октября; отмирание побегов происходило с наступлением первых заморозков (конец октября – начало ноября).

Впервые установлен факт устойчивости корней паслена каролинского к зимнему промерзанию почвы и факт способности к ежегодному возобновлению корневыми отпрысками в условиях г. Пятигорска (44° с. ш.). Сезонное развитие



**Рис. 15.** Питание личинок *Leptinotarsa decemlineata* на паслене каролинском (фото Л.Е. Демушкиной)

**Fig. 15.** *Leptinotarsa decemlineata* larvae feeding on *S. carolinense* (photo by L.E. Demushkina)

adaptation of this species to new natural and climatic conditions.

Plants were renewed annually due to root shoots. During the growing season, they formed dense, closed thickets, formed a large number of flowering shoots, which bloomed for a long time (2–2.5 months); the fruits ripened by mid-October; shoots died off with the onset of the first frosts (late October – early November).

For the first time, the fact of the *S. carolinense* roots resistance to winter soil freezing and the fact of the ability to annual renewal by root shoots in the conditions of Pyatigorsk (44° N) have been established. The *S. carolinense* seasonal development was characterized by early root shoots growth and a long growing season with abundant flowering in the summer-autumn period. The duration of the growing season averaged 170 days.

Freshly collected *S. carolinense* seeds were not viable as observed in 2021–2022. Although after 2–3 months, during storage indoors and re-determination of viability, some of the seeds became potentially



**Рис. 16.** Расположение семян в плоде у *S. carolinense* (фото Ю.Ю. Кулаковой)

**Fig. 16.** Location of seeds in the fruit of *S. carolinense* (photo by Yu.Yu. Kulakova)

паслена каролинского характеризовалось ранним отрастанием корневых побегов и длительной вегетацией с обильным цветением в летне-осенний период. Продолжительность вегетационного периода составила в среднем 170 дней.

Свежесобранные семена паслена каролинского не были жизнеспособными по наблюдениям за 2021–2022 гг. Хотя спустя 2–3 месяца в процессе хранения в помещении и повторного определения жизнеспособности некоторая часть семян становилась потенциально жизнеспособной. Вероятно, семенное возобновление не является первоочередным и имеет подчиненное значение для паслена каролинского, как и для большинства корнеотпрысковых растений.

На основании полученных данных выявлены важнейшие биологические особенности паслена каролинского, подтверждающие его фитосанитарный статус как опасного карантинного организма. Это агрессивное вегетативно-подвижное растение, способное распространяться корневыми порослью от места первичного вселения и выдерживать низкие положительные температуры почвы в зимний период.

Эти данные будут востребованы для разработки правил проведения карантинного фитосанитарного обследования подкарантинных объектов на территории Российской Федерации и установления карантинного фитосанитарного режима в случае выявления очагов паслена каролинского.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (№ 123042500048-5 «Разработка молекулярно-генетических и морфологических методов идентификации сорных видов растений, включенных в Единый перечень карантинных объектов ЕАЭС»).

**Благодарность.** Авторы выражают искреннюю признательность ведущему научному сотруднику лаборатории экологии и генетики насекомых и клещей ФГБУ «ВНИИКР» К.А. Гребенникову и научному сотруднику отдела организации МСИ ФГБУ «ВНИИКР» С.Ю. Муханову за предоставленный семенной материал паслена каролинского.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Буч Т.Г., Швыдкая В.Д. Новые и редкие адвентивные виды флоры Приморского края // Ботанический журнал. 1981. Т. 66. № 12. С. 1758–1763.
2. Куприянов А.Н. Теория и практика интродукции растений: учебное пособие. Кемерово: КРЭО «Ирбис», 2013, 160 с.
3. Методика фенологических наблюдений в ботанических садах СССР. М., 1975, 28 с.
4. Методические рекомендации по экспертизе карантинных сорных растений. Быково, ФГБУ «ВНИИКР», 2014, с. 13–16.
5. Москаленко Г.П. Карантинные сорные растения России. М.: Гос. инспекция по карантину растений Рос. Федерации (Росгоскарантин), 2001, 277 с.
6. Auld B., Hirohiko M., Tomoko N., Misako I., Michael P. Shared exotica: Plant invasions of Japan and

viable. Probably, seed regeneration is not a priority and is of subordinate importance for *S. carolinense*, as well as for most root-sucking plants.

Based on the data obtained, the most important biological features of *S. carolinense* were identified, confirming its phytosanitary status as a dangerous quarantine pest. This is an aggressive vegetatively mobile plant, capable of spreading by root shoots from the place of primary invasion and withstanding low positive soil temperatures in winter.

This data will be in demand for developing rules for conducting quarantine phytosanitary inspection of regulated objects in the Russian Federation and establishing a quarantine phytosanitary regime in the event of *S. carolinense* outbreak detection.

The work was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (No. 123042500048-5 “Development of molecular genetic and morphological methods for identifying weed species included in the EAEU Common List of Quarantine Pests”).

**Acknowledgement.** The authors express their sincere gratitude to the Leading Researcher of the Insects and Mites Ecology and Genetics Laboratory of FGBU “VNIKR” K.A. Grebennikov, and Researcher of the Interlaboratory Comparisons Department of FGBU “VNIKR” S.Yu. Mukhanov for providing *S. carolinense* seed material.

#### REFERENCES

1. Buch T.G., Shvydkaya V.D. New and rare adventive species of the flora of Primorsky Krai [Novyye i redkiye adventivnyye vidy flory Primorskogo kraya] // Botanical Journal. 1981; 66; 12: 1758–1763. (In Russ.)
2. Kupriyanov A.N. Theory and practice of plant introduction: textbook [Teoriya i praktika introduktsii rasteniy: uchebnoye posobiye]. Kemerovo: KREO “Irbis”, 2013, 160 p. (In Russ.)
3. Methodology of phenological observations in botanical gardens of the USSR [Metodika fenologicheskikh nablyudeniy v botanicheskikh sadakh SSSR]. M., 1975, 28 p. (In Russ.)
4. Guidelines for the quarantine weeds examination [Metodicheskiye rekomendatsii po ekspertize karantinnykh sornykh rasteniy]. Bykovo, FGBU “VNIKR”, 2014: 13–16. (In Russ.)
5. Moskalenko G.P. Quarantine weeds in Russia [Karantinnyye sornyie rasteniya Rossii]. M.: State Plant Quarantine Inspectorate Ros. Federation (Rosgoskarantin), 2001, 277 p. (In Russ.)
6. Auld B., Hirohiko M., Tomoko N., Misako I., Michael P. Shared exotica: Plant invasions of Japan and southeastern Australia // Cunninghamia. 2003. Vol. 8. P. 147–152.
7. Aleksidze G., Japaridze G., Kavtaradze G., Barjadze S. Invasive Alien Species of Georgia // Invasive Alien Species: Observations and Issues from Around the World. 2021. P. 88–123. URL: <https://doi.org/10.1002/9781119607045.ch28>.

southeastern Australia // *Cunninghamia*. 2003. Vol. 8. P. 147–152.

7. Aleksidze G., Japaridze G., Kavtaradze G., Barjadze S. Invasive Alien Species of Georgia // *Invasive Alien Species: Observations and Issues from Around the World*. 2021. P. 88–123. URL: <https://doi.org/10.1002/9781119607045.ch28>.

8. Anastasiu P., Negrean G., Samoilă C., Memedemin D., Cogălniceanu D. A comparative analysis of alien plant species along the Romanian Black Sea coastal area. The role of harbours // *Journal of Coastal Conservation*. 2011. Vol. 15. P. 595–606.

9. Bassett I.J., Munro D.B. The biology of Canadian weeds. 78. *Solanum carolinense* L. and *Solanum rostratum* Dunal // *Canadian Journal of Plant Science*. 1986. 66: 977–991.

10. Bradbury H.E., Aldrich R.J. Survey reveals extent of horsenettle infestation // *New Jersey Agric*. 1957. Vol. 39. P. 4–7.

11. Brodtbeck T., Huber A. Eine Adventivflora bei Neudorf-Hünigen (Elsass) // *Bauhinia*, 1988. Vol. 9 (1). P. 53–61.

12. Burda R. Alien plant species in the agricultural habitats of Ukraine: diversity and risk assessment // *Ekológia (Bratislava)*. 2018. Vol. 37. P. 24–31.

13. Darlington M.D. *Agricultural botany: An enumeration and description of useful plants and weeds, which merit the notice, or require the attention, of American agriculturalists*. Philadelphia, J.W. Moore, 1847.

14. D'Arcy W.G. *Solanum* and its close relatives in Florida // *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1974. Vol. 61. P. 818–867.

15. Dirkse G.M., Holverda W.J., Hochstenbach S.M.H., Reijerse A.I. *Solanum carolinense* L. en *Pimpinella peregrina* L. in Nederland // *Gorteria*. 2007. Vol. 33. P. 21–27.

16. EPPO Technical Document № 1086. Pest risk analysis for *Solanum carolinense*. Paris, 2022.

17. Follak S. Distribution and small-scale spread of the invasive weed *Solanum carolinense* in Austria // *EPPO Bulletin*. Vol. 50. 2020. P. 322–326.

18. Holm L., Pancho J.V., Herberger J.P., Plucknett D.L. *A geographical atlas of world weeds*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, UK: John Wiley and Sons, 1979, 391 p.

19. Ilnicki R.D., Tisdell T.F., Fertig S.N. and Furrer A.H. Life history studies as related to weed control in the Northeast. 3 – Horse-nettle. *Univ. R. I. Agric. Exp. Stat. Bui.*, 1962, № 368. 54 p.

20. Junghans T. Der Carolina-Nachtschatten (*Solanum carolinense*) als eingebürgerter Neophyt im Industriehafen von Mannheim. *Pollichia-Kurier*. 2013. Vol. 29. P. 6–9.

21. Kosaka Y., Saikia B., Mingki T., Tag H., Riba T., Ando K. Roadside distribution patterns of invasive alien plants along an altitudinal gradient in Arunachal Himalaya, India // *Mountain Research and Development*. 2010. Vol. 30. P. 252–258.

22. Kozhevnikov A.E., Kozhevnikova Z.V., Kwak M., Lee B.Y. *Illustrated Flora of the Primorsky territory (Russian Far East)*. National Institute of Biological Resources, Incheon, South Korea, 2019.

23. Li Gen You, Jin Shui Hu, Ai Jian Guo. Species, characteristics and control measures of injurious plants in Zhejiang Province // *Journal of Zhejiang Forestry College*. 2006. Vol. 23. P. 614–624.

8. Anastasiu P., Negrean G., Samoilă C., Memedemin D., Cogălniceanu D. A comparative analysis of alien plant species along the Romanian Black Sea coastal area. The role of harbours // *Journal of Coastal Conservation*. 2011. Vol. 15. P. 595–606.

9. Bassett I.J., Munro D.B. The biology of Canadian weeds. 78. *Solanum carolinense* L. and *Solanum rostratum* Dunal // *Canadian Journal of Plant Science*. 1986. 66: 977–991.

10. Bradbury H.E., Aldrich R.J. Survey reveals extent of horsenettle infestation // *New Jersey Agric*. 1957. Vol. 39. P. 4–7.

11. Brodtbeck T., Huber A. Eine Adventivflora bei Neudorf-Hünigen (Elsass) // *Bauhinia*, 1988. Vol. 9 (1). P. 53–61.

12. Burda R. Alien plant species in the agricultural habitats of Ukraine: diversity and risk assessment // *Ekológia (Bratislava)*. 2018. Vol. 37. P. 24–31.

13. Darlington M.D. *Agricultural botany: An enumeration and description of useful plants and weeds, which merit the notice, or require the attention, of American agriculturalists*. Philadelphia, J.W. Moore, 1847.

14. D'Arcy W.G. *Solanum* and its close relatives in Florida // *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 1974. Vol. 61. P. 818–867.

15. Dirkse G.M., Holverda W.J., Hochstenbach S.M.H., Reijerse A.I. *Solanum carolinense* L. en *Pimpinella peregrina* L. in Nederland // *Gorteria*. 2007. Vol. 33. P. 21–27.

16. EPPO Technical Document № 1086. Pest risk analysis for *Solanum carolinense*. Paris, 2022.

17. Follak S. Distribution and small-scale spread of the invasive weed *Solanum carolinense* in Austria // *EPPO Bulletin*. Vol. 50. 2020. P. 322–326.

18. Holm L., Pancho J.V., Herberger J.P., Plucknett D.L. *A geographical atlas of world weeds*. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, UK: John Wiley and Sons, 1979, 391 p.

19. Ilnicki R.D., Tisdell T.F., Fertig S.N. and Furrer A.H. Life history studies as related to weed control in the Northeast. 3 – Horse-nettle. *Univ. R. I. Agric. Exp. Stat. Bui.*, 1962, № 368. 54 p.

20. Junghans T. Der Carolina-Nachtschatten (*Solanum carolinense*) als eingebürgerter Neophyt im Industriehafen von Mannheim. *Pollichia-Kurier*. 2013. Vol. 29. P. 6–9.

21. Kosaka Y., Saikia B., Mingki T., Tag H., Riba T., Ando K. Roadside distribution patterns of invasive alien plants along an altitudinal gradient in Arunachal Himalaya, India // *Mountain Research and Development*. 2010. Vol. 30. P. 252–258.

22. Kozhevnikov A.E., Kozhevnikova Z.V., Kwak M., Lee B.Y. *Illustrated Flora of the Primorsky territory (Russian Far East)*. National Institute of Biological Resources, Incheon, South Korea, 2019.

23. Li Gen You, Jin Shui Hu, Ai Jian Guo. Species, characteristics and control measures of injurious plants in Zhejiang Province // *Journal of Zhejiang Forestry College*. 2006. Vol. 23. P. 614–624.

24. Mandal M.S.H., Ali M.H., Amin A.K.M.R., Masum S.M., Mehraj H. Assessment of different weed

24. Mandal M.S.H., Ali M.H., Amin A.K.M.R., Masum S.M., Mehraj H. Assessment of different weed control methods on growth and yield of wheat // International Journal of Agronomy and Agricultural Research. 2014. Vol. 5. P. 65–73.
25. Martínez M., Vargas-Ponce O., Rodríguez A., Chiang F., Ocegueda S. Solanaceae family in Mexico // Botanical Sciences. 2017. Vol. 95 P. 131–145.
26. Milović M., Mitić B. The urban flora of the city of Zadar (Dalmatia, Croatia) // Natura Croatica, 2012. Vol. 21. P. 65–100.
27. Miyazaki K., Ito M., Urakawa S. Seasonal pattern of shoot emergence and its endogenous control in horsenettle (*Solanum carolinense* L.) // Weed Biology and Management. 2005. Vol. 5 (1). P. 14–18.
28. Ouren T. Soybean adventitious weeds in Norway // Blyttia. 1987. Vol. 45. P. 175–185.
29. Pérez J.J.P., Pando F.J.S., Pérez R.P. Cuatro solanáceas (Solanaceae) alóctonas nuevas para la flora de Galicia // Nova Acta Científica Compostelana (Biología). 2020. Vol. 27. P. 61–68.
30. Pyšek P., Danihelka J., Sádlo J., Chrtěk J.Jr., Chytrý M., Jarošík V., Kaplan Z., Krahulec F., Moravcová L., Pergl J., Štajerová K., Tichý L. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2<sup>nd</sup> edition): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns // Preslia, 2012. Vol. 84. P. 155–255.
31. Runnels H.A., Schaffner J.H. Manual of Ohio Weeds, 1931.
32. Ryu T.B., Lim J.C., Lee C.H., Kim E.J., Choi B.K. Distribution of invasive species in metropolitan Busan, South Korea // Journal of Life Science. 2017. Vol. 27. P. 408–416.
33. Stace C.A. New flora of the British Isles. 4<sup>th</sup> Edition, C & M Floristics, 2019.
34. Stehmann J.R., Mentz L.A., Agra M.F., Vignoli-Silva M., Giacomini L., Rodrigues I.M.C. Solanaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.
35. Todua N.A. Quarantine weeds of the Abkhazian ASSR and improvement of control measures against *Solanum carolinense* L. Autoref. diss. cand. agricultural farm. sciences'. Yerevan: Armenian Agricultural Institute, 1975, 30 p.
36. Vinogradova Yu.K. et al. Invasive plants in flora of the Russian Far East: the checklist and comments // Botanica Pacifica: a journal of plant science and conservation. 2020. Vol. 9 (1). P. 103–129.
37. Wahlert G.A., Chiarini F.E., Bohs L. A revision of *Solanum* section *Lathyrocarpum* (the Carolinense clade, Solanaceae) // Systematic Botany. 2015. Vol. 40 (3). P. 853–887.
38. Webb C.J., Sykes W.R., Garnock-Joens P.J. Flora of New Zealand, Vol. IV. Botany Division, DSIR, New Zealand, 1988.
39. Климатические особенности г. Пятигорска [Электронный ресурс]. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%8F%D1%82%D0%B8%D0%B3%D0%BE%D1%80%D1%81%D0%BA> (дата обращения: 20.08.2023).
40. Международная конвенция по карантину и защите растений [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ippc.int/ru/> (дата обращения: 10.08.2023).
41. CABi, 2021. Datasheet *Solanum carolinense* (horsenettle). Invasive Species Compendium control methods on growth and yield of wheat // International Journal of Agronomy and Agricultural Research. 2014. Vol. 5. P. 65–73.
25. Martínez M., Vargas-Ponce O., Rodríguez A., Chiang F., Ocegueda S. Solanaceae family in Mexico // Botanical Sciences. 2017. Vol. 95 P. 131–145.
26. Milović M., Mitić B. The urban flora of the city of Zadar (Dalmatia, Croatia) // Natura Croatica, 2012. Vol. 21. P. 65–100.
27. Miyazaki K., Ito M., Urakawa S. Seasonal pattern of shoot emergence and its endogenous control in horsenettle (*Solanum carolinense* L.) // Weed Biology and Management. 2005. Vol. 5 (1). P. 14–18.
28. Ouren T. Soybean adventitious weeds in Norway // Blyttia. 1987. Vol. 45. P. 175–185.
29. Pérez J.J.P., Pando F.J.S., Pérez R.P. Cuatro solanáceas (Solanaceae) alóctonas nuevas para la flora de Galicia // Nova Acta Científica Compostelana (Biología). 2020. Vol. 27. P. 61–68.
30. Pyšek P., Danihelka J., Sádlo J., Chrtěk J.Jr., Chytrý M., Jarošík V., Kaplan Z., Krahulec F., Moravcová L., Pergl J., Štajerová K., Tichý L. Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2<sup>nd</sup> edition): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns // Preslia, 2012. Vol. 84. P. 155–255.
31. Runnels H.A., Schaffner J.H. Manual of Ohio Weeds, 1931.
32. Ryu T.B., Lim J.C., Lee C.H., Kim E.J., Choi B.K. Distribution of invasive species in metropolitan Busan, South Korea // Journal of Life Science. 2017. Vol. 27. P. 408–416.
33. Stace C.A. New flora of the British Isles. 4<sup>th</sup> Edition, C & M Floristics, 2019.
34. Stehmann J.R., Mentz L.A., Agra M.F., Vignoli-Silva M., Giacomini L., Rodrigues I.M.C. Solanaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015.
35. Todua N.A. Quarantine weeds of the Abkhazian ASSR and improvement of control measures against *Solanum carolinense* L. Autoref. diss. cand. agricultural farm. sciences'. Yerevan: Armenian Agricultural Institute, 1975, 30 p.
36. Vinogradova Yu.K. et al. Invasive plants in flora of the Russian Far East: the checklist and comments // Botanica Pacifica: a journal of plant science and conservation. 2020. Vol. 9 (1). P. 103–129.
37. Wahlert G.A., Chiarini F.E., Bohs L. A revision of *Solanum* section *Lathyrocarpum* (the Carolinense clade, Solanaceae) // Systematic Botany. 2015. Vol. 40 (3). P. 853–887.
38. Webb C.J., Sykes W.R., Garnock-Joens P.J. Flora of New Zealand, Vol. IV. Botany Division, DSIR, New Zealand, 1988.
39. Climatic features of Pyatigorsk [Electronic resource]. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9F%D1%8F%D1%82%D0%B8%D0%B3%D0%BE%D1%80%D1%81%D0%BA> (last accessed: 20.08.2023).
40. International Convention on Quarantine and Plant Protection [Electronic resource]. URL: <https://www.ippc.int/ru/> (last accessed: 10.08.2023).

[Электронный ресурс]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/50510> (дата обращения: 30.11.2021).

42. EPPO Global Database [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/> (дата обращения: 30.08.2023).

43. FinBIF, 2021. *Solanum carolinense* L. [Электронный ресурс]. URL: <https://laji.fi/en/taxon/MX.41509> (дата обращения: 15.08.2023).

44. Manual of Alien Plants of Belgium, 2021 [Электронный ресурс]. URL: <http://alienplantsbelgium.be/content/solanum-carolinense> (дата обращения: 10.08.2023).

45. Portal to the Flora of Italy, 2021. *Solanum carolinense* L. [Электронный ресурс]. URL: <http://dryades.units.it/floritaly> (дата обращения: 05.08.2023).

46. USDA-ARS, 2001 [Электронный ресурс]. URL: [http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax\\_search.pl](http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl) (дата обращения: 01.06.2023).

47. VASCAN, 2021. *Solanum carolinense* L. Database of Vascular Plants of Canada [Электронный ресурс]. URL: <https://data.canadensys.net/vascan/search> (дата обращения: 05.10.2022).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Демушкина Людмила Егоровна**, младший научный сотрудник Пятигорского филиала ФГБУ «ВНИИКР», Ставропольский край, г. Пятигорск, Россия; *ORCID 0009-0004-7940-3917*, *e-mail: demushkina.mila@yandex.ru*.

**Кулакова Юлиана Юрьевна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник – начальник научно-методического отдела инвазивных видов растений ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-9973-7584*; *e-mail: thymus73@mail.ru*.

**Кулаков Виталий Геннадьевич**, старший научный сотрудник – начальник отдела организации МСИ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *ORCID 0000-0002-7090-3139*, *e-mail: vitaliyk2575@mail.ru*.

41. CABI, 2021. Datasheet *Solanum carolinense* (horsenettle). Invasive Species Compendium [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/50510> (last accessed: 30.11.2021).

42. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/> (last accessed: 30.08.2023).

43. FinBIF, 2021. *Solanum carolinense* L. [Electronic resource]. URL: <https://laji.fi/en/taxon/MX.41509> (last accessed: 15.08.2023).

44. Manual of Alien Plants of Belgium, 2021 [Electronic resource]. URL: <http://alienplantsbelgium.be/content/solanum-carolinense> (last accessed: 10.08.2023).

45. Portal to the Flora of Italy, 2021. *Solanum carolinense* L. [Electronic resource]. URL: <http://dryades.units.it/floritaly> (last accessed: 05.08.2023).

46. USDA-ARS, 2001 [Electronic resource]. URL: [http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax\\_search.pl](http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl) (last accessed: 01.06.2023).

47. VASCAN, 2021. *Solanum carolinense* L. Database of Vascular Plants of Canada [Electronic resource]. URL: <https://data.canadensys.net/vascan/search> (last accessed: 05.10.2022).

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Ludmila Demushkina**, Junior Researcher, Pyatigorsk Branch of FGBU “VNIICR”, Stavropol Krai, Pyatigorsk, Russia; *ORCID 0009-0004-7940-3917*, *e-mail: demushkina.mila@yandex.ru*.

**Yuliana Kulakova**, PhD in Biology, Leading Researcher – Head of Research and Methodology Department of Invasive Plant Species, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-9973-7584*; *e-mail: thymus73@mail.ru*.

**Vitaliy Kulakov**, Junior Researcher – Head of Interlaboratory Comparisons Department, FGBU “VNIICR”, Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *ORCID 0000-0002-7090-3139*, *e-mail: vitaliyk2575@mail.ru*.

УДК 632.913.1

## Оценка фитосанитарных рисков, связанных с экспортом, импортом и перемещением семенного материала моркови и других зонтичных культур

\* ВАЛЕЕВА Н.Г.

Южный филиал ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), г. Симферополь, Республика Крым, Россия, 295053  
 ORCID 0000-0003-4002-7630, e-mail: nvaleeva@mail.ru

### АННОТАЦИЯ

В настоящее время происходит постоянное международное перемещение семян для разных целей: выращивания продовольственной продукции, получения кормов для животных, применения в качестве лекарственного сырья, использования в косметологии, проведения научных исследований и других.

Семена являются источником фитосанитарного риска в случае их интродукции в среду, где высока вероятность акклиматизации и распространения любых связанных с семенами вредных организмов.

Проведен поиск вредных организмов, связанных с семенами моркови и других зонтичных культур. Сделана систематизация перечня и категоризация вредных организмов, связанных с семенами зонтичных культур. При систематизации сформированного перечня выявленные вредные организмы были разделены на 3 группы:

– регулируемые вредные организмы, потенциально связанные с семенами моркови и других зонтичных культур;

– нерегулируемые виды вредных организмов, потенциально связанные с семенами моркови и других зонтичных культур и распространенные на территории РФ;

– нерегулируемые виды вредных организмов, потенциально связанные с семенами моркови и других зонтичных культур и отсутствующие на территории РФ.

Для стран – поставщиков семян зонтичных культур рассчитан интегральный индекс риска, определяющий количество досматриваемых партий продукции, с использованием матрицы риска. На основе сравнения индексов риска построен сравнительный рейтинг стран-поставщиков по степени фитосанитарного риска, связанного с импортированием семян моркови и других зонтичных культур из этих стран.

Для стран-импортеров установлено значение экспортного потенциала, построен сравнительный рейтинг стран-импортеров по степени строгости фитосанитарных требований, предъявляемых

UDC 632.913.1

## Pest risks analysis connected with export, import and movement of seed material of carrots and other Umbelliferae crops

\* NATALYA G. VALEEVA

Southern branch of FGBU "All-Russian Plant Quarantine Center" (FGBU "VNIIKR"), Simferopol, Republic of Crimea, Russia, 295053  
 ORCID 0000-0003-4002-7630, e-mail: nvaleeva@mail.ru

### ABSTRACT

Currently, there is a constant international movement of seeds for various purposes: growing food products, obtaining animal feed, applying them as medicinal raw materials, using them in cosmetology, conducting scientific research, and others.

Seeds pose a pest risk if introduced into an environment where any seed-associated pests are likely to adapt and spread.

A search was carried out for pests associated with the carrot and other Umbelliferae seeds. A systematization of the list and categorization of pests associated with Umbelliferae seeds has been made. When systematizing the generated list, the identified pests were divided into 3 groups:

– regulated pests potentially associated with carrot and other Umbelliferae seeds;

– non-regulated pest species potentially associated with carrot and other Umbelliferae seeds and spread in the Russian Federation;

– non-regulated pest species potentially associated with carrot and other Umbelliferae seeds and absent in the Russian Federation.

For countries supplying seeds of Umbelliferae crops, an integral risk index was calculated, determining the number of inspected batches of products, using a risk matrix. Based on a comparison of risk indices, a comparative rating of supplying countries was constructed according to the degree of pest risk associated with the import of carrot and other Umbelliferae seeds from these countries.

For importing countries, the importance of export potential has been established, a comparative rating of

этимися государствами к семенам моркови и других зонтичных культур.

Составлен перечень карантинных объектов, связанных с семенами моркови и других зонтичных культур и ограниченно распространённых на территории Российской Федерации.

Проведена оценка фитосанитарных мер управления рисками, связанными с импортированием, экспортированием и перемещением семян моркови и других зонтичных культур.

**Ключевые слова.** Семена, карантинные вредные организмы, управление рисками, фитосанитарные меры.

## ВВЕДЕНИЕ



Многие растения семейства Зонтичные имеют большое хозяйственное значение и повсеместно выращиваются в качестве пищевых (преимущественно овощных и пряных), лекарственных, кормовых и технических растений.

Семена могут быть источником распространения всевозможных вредных организмов, акклиматизация которых приведет к значительным экономическим последствиям.

Посевные площади моркови в Российской Федерации в 2020 г. составили 46 100 га. Промышленное производство корнеплодных культур сосредоточено в основном в Центральном, Южном и Приволжском федеральных округах, в которых выращивается около 70% валового сбора.

Для посева в Российской Федерации главным образом используют семенной материал зонтичных культур импортного происхождения. В связи с этим возрастает риск распространения отсутствующих на территории России карантинных и некарантинных вредных организмов, связанных с семенами.

Целью работы была систематизация перечня и категоризация вредных организмов, связанных с семенами моркови и других зонтичных культур, оценка фитосанитарных мер управления рисками.

Оценка фитосанитарного риска, связанного с семенами моркови и других зонтичных культур, проводилась по трем направлениям: оценка фитосанитарных мер управления рисками, связанными с импортированием; оценка фитосанитарных мер управления рисками, связанными с экспортированием; оценка фитосанитарных мер управления рисками, связанными с перемещением семенной продукции на территории Российской Федерации.

Результаты исследования могут быть использованы специалистами в области карантина растений для предотвращения распространения карантинных вредных организмов при импорте, экспорте, перемещении семян моркови и других зонтичных культур.

importing countries has been constructed according to the degree of severity of the phytosanitary requirements imposed by these states on carrot and other Umbelliferae seeds.

A list of quarantine objects associated with carrot and other Umbelliferae seeds, limitedly present in the Russian Federation, has been compiled.

Pest risk management measures connected with import, export and movement of carrot and other Umbelliferae seeds has been assessed.

**Key words.** Seeds, quarantine pests, risk management, phytosanitary measures.

## INTRODUCTION



Many plants of the Umbelliferae family are of great economic importance and are widely grown as food (mainly vegetable and spicy), medicinal, fodder and industrial plants.

Seeds can be a pathway for all kinds of pests, whose adaptation will lead to significant economic consequences.

The area sown with carrots in the Russian Federation in 2020 amounted to 46,100 hectares. Industrial production of root crops is concentrated mainly in the Central, Southern and Volga Federal Districts, where about 70% of the gross harvest is grown.

For sowing in the Russian Federation, Umbelliferae seed material of imported origin is mainly used. In this regard, the risk of spread of quarantine and non-quarantine pests associated with seeds that are not present in Russia increases.

The purpose of the work was to systematize the list and categorize pests associated with carrot and other Umbelliferae seeds, assess pest risk management measures.

The PRA associated with carrot and other Umbelliferae seeds was carried out in three areas: assessment of pest risk management measures connected with importation; assessment of pest risk management measures connected with export; assessment of phytosanitary measures to manage risks connected with the movement of seed products in the Russian Federation.

The results of the study can be used by plant protection specialists to prevent the spread of quarantine pests during import, export, and movement of carrot and other Umbelliferae seeds.

## MATERIALS AND METHODS

The studies were conducted in 2020–2022.

The object of the study was pests associated with carrot and other Umbelliferae seeds as commercial products (HS code 1209918000 – other vegetable seeds).

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились в 2020–2022 гг.

Объектом исследования являлись вредные организмы, связанные с семенами моркови и других зонтичных культур как товарной продукции (код ТН ВЭД 1209918000 – прочие семена овощных культур).

Оценка фитосанитарных рисков, связанных с импортированием, экспортированием и перемещением семян моркови и других зонтичных культур, проводилась в соответствии с международными стандартами (МСФМ 19, 2003; МСФМ 2, 2007; РМ 5/6 (1), 2012; МСФМ 11, 2013; МСФМ 38, 2017; РМ 5/5 (1), 2022).

При выполнении работы использовались открытые базы данных по вредным организмам: EPPO Global Database (<https://gd.eppo.int>); CABI Compendium (<https://www.cabidigitallibrary.org/journal/cabicompendium>); CABI Plantwise (<https://www.cabi.org/projects/plantwise>); Global Biodiversity Information Facility Free and open access to biodiversity data (<https://www.gbif.org>); Global invasive species database (<http://www.iucngisd.org/gisd>); Atlas of Living Australia (<https://bie.ala.org.au>); Fungi of Great Britain and Ireland (<http://fungi.myspecies.info>); Агроэкологический атлас России и сопредельных стран (<http://www.agroatlas.ru>).

Источниками статистической информации об объемах и структуре импорта рассматриваемой продукции в Российскую Федерацию и экспорта из нее стали: данные таможенной статистики внешней торговли РФ (<http://stat.customs.ru>), Федеральной государственной информационной системы (ФГИС) «Аргус-Фито» (<http://argusfito.fitorf.ru>); данные обнаружения территориальными управлениями Россельхознадзора карантинных вредных организмов в импортной подкарантинной продукции семян зонтичных культур для посева.

При оценке фитосанитарных мер управления рисками, связанными с экспортированием семян моркови и других зонтичных культур, были проанализированы фитосанитарные требования стран – импортеров российской продукции (перечни регулируемых организмов, а также специальные фитосанитарные требования).

При оценке фитосанитарных мер управления рисками, связанными с перемещением семян моркови и других зонтичных культур, использовались данные о зонах производства анализируемой продукции, об установленных очагах карантинных объектов.

Количественная оценка фитосанитарных рисков, связанных с импортированием, экспортированием и перемещением семян моркови и других зонтичных культур, проводилась в соответствии с общепринятыми стандартами управления рисками (ГОСТ Р ИСО 31000-2010, 2018), применялся метод построения матрицы риска с использованием качественно-количественных шкал вероятностей и последствий.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение открытых баз данных вредных организмов и различных литературных источников показало, что с семенами моркови и других зонтичных культур потенциально связано 207 видов

The assessment of pest risks associated with the import, export and movement of carrot and other Umbelliferae seeds was carried out in accordance with international standards (ISPM 19, 2003; ISPM 2, 2007; РМ 5/6 (1), 2012; ISPM 11, 2013; ISPM 38, 2017; РМ 5/5 (1), 2022).

Open databases on pests were used for the research: EPPO Global Database (<https://gd.eppo.int>); CABI Compendium (<https://www.cabidigitallibrary.org/journal/cabicompendium>); CABI Plantwise (<https://www.cabi.org/projects/plantwise>); Global Biodiversity Information Facility Free and open access to biodiversity data (<https://www.gbif.org>); Global invasive species database (<http://www.iucngisd.org/gisd>); Atlas of Living Australia (<https://bie.ala.org.au>); Fungi of Great Britain and Ireland (<http://fungi.myspecies.info>); Agroecological atlas of Russia and neighboring countries (<http://www.agroatlas.ru>).

The sources of statistical information on the volumes and structure of imports of the products considered into the Russian Federation and exports were: foreign trade data from Russian customs statistics (<http://stat.customs.ru>), Federal State Information System (FSIS) “Argus-Fito” (<http://argusfito.fitorf.ru>); data on the detection of quarantine pests by territorial departments of Rosselkhoz nadzor in imported regulated products of Umbelliferae seeds for sowing.

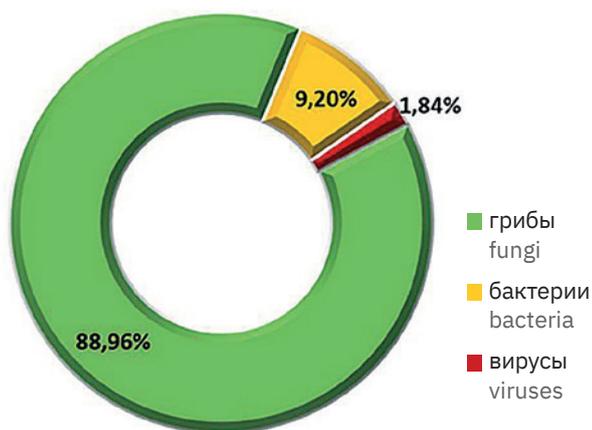
When assessing phytosanitary risk management measures associated with the export of carrot and other Umbelliferae seeds, the phytosanitary requirements of countries importing Russian products (lists of regulated pests, as well as special phytosanitary requirements) were analyzed.

When assessing phytosanitary measures to manage risks associated with the movement of carrot and other Umbelliferae seeds, data on the production zones of the analyzed products and identified outbreaks of quarantine pests were used.



Рис. 1. Группы вредных организмов, потенциально связанных с семенами моркови и других зонтичных культур

Fig. 1. Pest groups potentially associated with carrot and other Umbelliferae seeds



**Рис. 2. Группы возбудителей болезней моркови и других зонтичных культур, потенциально связанных с семенами** **Fig. 2. Pathogen groups of carrots and other Umbelliferae potentially associated with seeds**

вредных организмов. На рис. 1 показано, что в семенном материале данных культур встречаются 7 групп вредных организмов: насекомые – 7 видов (3,38%), клещи – 2 вида (0,97%), нематоды – 1 вид (0,48%), бактерии – 15 видов (7,25%), вирусы – 3 вида (1,45%), растения – 34 вида (16,43%), грибы – 145 видов (70,04%).

Полученные данные показали, что 78,74% (163 вида) всех вредных организмов, связанных с зонтичными культурами, приходится на долю возбудителей болезней. В этой группе патогенов, вызывающих заболевания, самыми распространенными являются грибы (88,96%), на втором месте находятся бактерии (9,20%), на вирусы приходится 1,84% (см. рис. 2).

Проведенная систематизация и категоризация перечня вредных организмов показала, что с анализируемой продукцией связаны несколько регулируемых вредных организмов (<https://pestlist.worldseed.org/public/pestlist.jsp>; Final review..., 2021):

**Бактерии:** *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaourous*, Zebra Chip Disease) – зебра чип.

**Растения:**

*Ambrosia artemisiifolia* L. – амброзия полынно-лиственная;  
*Cuscuta* spp. – повилики;  
*Acroptilon repens* (L.) DC. – горчак ползучий;  
*Solanum rostratum* Dun. – паслен колючий;  
*Cenchrus longispinus* (Hack.) Fern. – ценхрус длинноколочковый.

**Насекомые:**

*Trogoderma granarium* Everts – капровый жук (PM 7/13 (2), 2013).

В группу не регулируемых перечнем вредных организмов, отсутствующих на территории Российской Федерации и потенциально представляющих фитосанитарный риск для зон выращивания зонтичных культур, был включен 91 вид.

Вредные организмы распределились следующим образом: грибы – 81 вид (89,01%), бактерии – 6 видов (6,59%), вирусы – 3 вида (3,30%), растения – 1 вид (1,10%).

Группа вредных организмов, не регулируемых перечнем и распространенных на территории Российской Федерации, насчитывает 110 видов.

Quantitative assessment of pest risks associated with the import, export and movement of carrot and other Umbelliferae seeds was carried out in accordance with generally accepted risk management standards (GOST R ISO 31000-2010, 2018), a method was used to construct a risk matrix using qualitative-quantitative probability scales and consequences.

**RESULTS AND DISCUSSION**

A study of public pest databases and various literature sources showed that 207 pest species are potentially associated with carrot and other Umbelliferae seeds. Fig. 1 shows that in the seed material of these crops there are 7 pest groups: insects – 7 species (3.38%), mites – 2 species (0.97%), nematodes – 1 species (0.48%), bacteria – 15 species (7.25%), viruses – 3 species (1.45%), plants – 34 species (16.43%), fungi – 145 species (70.04%).

The data obtained showed that 78.74% (163 species) of all pests associated with Umbelliferae are pathogens. In this group of pathogens that cause diseases, the most common are fungi (88.96%), bacteria are in second place (9.20%), viruses account for 1.84% (see Fig. 2).

The systematization and categorization of the pest list showed that several regulated pests are associated with the analyzed products (<https://pestlist.worldseed.org/public/pestlist.jsp>; Final review..., 2021):

**Bacteria:** *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaourous*, Zebra Chip Disease).

**Plants:**

*Ambrosia artemisiifolia* L.;  
*Cuscuta* spp.;  
*Acroptilon repens* (L.) DC.;  
*Solanum rostratum* Dun.;  
*Cenchrus longispinus* (Hack.) Fern.

**Insects:**

*Trogoderma granarium* Everts (PM 7/13 (2), 2013).

91 species were included in the pest group not regulated by the pest list, absent in the Russian Federation and potentially posing a pest risk for areas producing Umbelliferae.

Pests were distributed as follows: fungi – 81 species (89.01%), bacteria – 6 species (6.59%), viruses – 3 species (3.30%), plants – 1 species (1.10%).

The group of pests not regulated by the list and spread in the Russian Federation includes 110 species.

According to the Federal State Information System “Argus-Fito” (<http://argusfito.fitorf.ru>), the import volume of carrot and other Umbelliferae seeds for sowing amounted to 738.4 tons in 2017–2020. The most imported seeds were dill seeds – 228.1 tons, carrots – 208.5 tons, coriander – 129.4 tons and parsley – 110.2 tons, the least was celery root seeds – 0.2 tons (see Fig. 3).

The import volume of dill seeds varied from year to year: most seed material was received in 2017 – 90.1 tons and in 2020 – 54.2 tons. Over the years of research, seeds were imported from 17 countries.

По данным ФГИС «Аргус-Фито» (<http://argusfito.fitorf.ru>), объем импорта семян моркови и других зонтичных культур для посева за 2017–2020 гг. составил 738,4 т. Больше всего было импортировано семян укропа – 228,1 т, моркови – 208,5 т, кориандра – 129,4 т и петрушки – 110,2 т, меньше всего – семян корневого сельдерея – 0,2 т (см. рис. 3).

Объемы импорта семян укропа варьировали по годам: больше всего семенного материала поступило в 2017 г. – 90,1 т и в 2020 г. – 54,2 т. За годы исследований семена импортировались из 17 стран. Лидером поставок была Италия – 139,5 т. Ведущими экспортерами также являлись Польша, Франция и Индия.

В 2017–2020 гг. семена моркови были импортированы в Российскую Федерацию из 23 стран. Лидирующие позиции по объемам поставок занимали Франция, США, Польша, Австралия, Германия и Италия. Больше всего семян для посева поступило в 2017 г. – 90,6 т и в 2019 г. – 69,20 т. В 2020 г. было импортировано всего 1,1 т посевного материала моркови.

Посевной материал кориандра поступал в РФ из 12 стран. Больше всего семян поступило в 2017 г. – 50,6 т и в 2020 г. – 37,6 т. Лидерами поставок семян кориандра были США (92,5 т), Италия (20,3 т) и Франция (15,8 т).

Больше всего семян петрушки импортировали в 2017 г. – 31,9 т и в 2020 г. – 39,4 т. Импорт семенного материала осуществлялся из 17 стран. Ведущие позиции по объемам поставок занимали Франция – 81,6 т, Италия – 12,5 т и Польша – 7,3 т.

В годы исследования семена тмина были импортированы из трех стран: Сирийской Арабской Республики (44 т), Польши (63 кг) и Армении (всего 20 г).

Семена листового сельдерея импортировали из 10 стран. Доминировали по объемам поставки семенной продукции из Индии (5,6 т), Египта (5 т) и Китая (1,5 т). Больше всего семян было импортировано в 2019 г. – 12,2 т.

Семена корневого сельдерея в 2017–2020 гг. импортировали в РФ из трех стран: Италии (0,1 т), Нидерландов (0,1 т) и Франции (0,004 т).

Семена фенхеля для посева импортировали в РФ только в 2020 г. в количестве 4,7 т. Семенной материал поступал из двух стран – Италии и Австралии. Почти вся продукция была получена из Италии, из Австралии поступил всего 1 кг семян.

Обобщенные данные территориальных управлений Россельхознадзора за 2020–2022 гг. о случаях обнаружения карантинных вредных организмов (КВО) в импортной продукции представлены в табл. 1.

Больше всего КВО было обнаружено в импортной продукции из Таджикистана – 3 вида сорных растений и Кыргызстана – 2 вида сорняков.

**Виды КВО, встречающиеся в подкарантинной продукции семян зонтичных культур:**

Кориандр: горчак ползучий *Acroptilon repens*, повилики *Cuscuta* spp., паслен колючий *Solanum rostratum*.

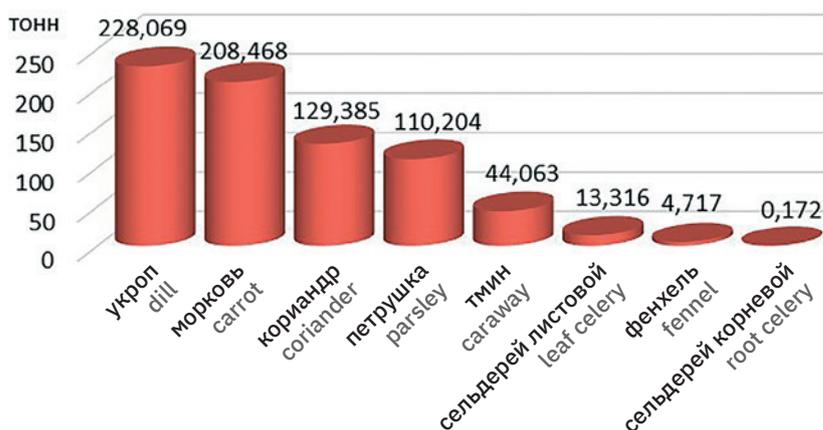


Рис. 3. Импорт семян зонтичных культур для посева в 2017–2020 гг. (тонны) Fig. 3. Import of Umbelliferae seeds for sowing in 2017–2020 (tons)

The leader in supplies was Italy – 139.5 tons. Leading exporters were also Poland, France and India.

In 2017–2020, carrot seeds were imported into the Russian Federation from 23 countries. The leading positions in terms of supply volumes were occupied by France, the USA, Poland, Australia, Germany and Italy. Most seeds for sowing were received in 2017 – 90.6 tons and in 2019 – 69.20 tons. In 2020, only 1.1 tons of carrot seed were imported.

Coriander seed material came to the Russian Federation from 12 countries. Most seeds were received in 2017 – 50.6 tons and in 2020 – 37.6 tons. The leaders in supplies of coriander seeds were the USA (92.5 tons), Italy (20.3 tons) and France (15.8 tons).

Most parsley seeds were imported in 2017 – 31.9 tons and in 2020 – 39.4 tons. Seed material was imported from 17 countries. The leading positions in terms of supply volumes were occupied by France – 81.6 tons, Italy – 12.5 tons and Poland – 7.3 tons.

During the study years, caraway seeds were imported from three countries: the Syrian Arab Republic (44 tons), Poland (63 kg) and Armenia (total 20 g).

Leaf celery seeds were imported from 10 countries. The supply volumes of seed products were dominated by India (5.6 tons), Egypt (5 tons) and China (1.5 tons). The largest quantity of seeds was imported in 2019 – 12.2 tons.

Celery root seeds in 2017–2020 imported to the Russian Federation from three countries: Italy (0.1 t), the Netherlands (0.1 t) and France (0.004 t).

Fennel seeds for sowing were imported into the Russian Federation in the amount of 4.7 tons only in 2020. The seed material came from two countries – Italy and Australia. Almost all the production was received from Italy, only 1 kg of seeds came from Australia.

Generalized data of territorial departments of Rosselkhoznadzor for 2020–2022 on cases of detection of quarantine pests in imported products are presented in Table 1.

Most of the quarantine pests were detected in imported products from Tajikistan – 3 weed species and Kyrgyzstan – 2 weed species.

Морковь: зебра чип *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease), повилки *Cuscuta* spp.

Петрушка: зебра чип *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease), повилки *Cuscuta* spp.

Сельдерей корневой: зебра чип *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease).

Сельдерей листовой: зебра чип *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease).

Тмин: повилки *Cuscuta* spp., ценхрус длинно-колючковый *Cenchrus longispinus*.

Укроп: повилки *Cuscuta* spp.

Был рассчитан интегральный рейтинг стран – экспортеров семян зонтичных культур в РФ, на основании которого определен процент партий продукции для досмотра (см. табл. 2).

Были разработаны фитосанитарные меры при импорте семян зонтичных культур:

**В стране – производителе продукции:**

Выращивание продукции в зонах, свободных от КВО. Производство продукции по сертификационной схеме. Мониторинг КВО в период производства, транспортировки и хранения семян моркови и других зонтичных культур. Фумигация хранилищ семенной продукции при обнаружении карантинных вредителей запаса. Досмотр упаковочных станций. Предотгрузочный досмотр.

**При ввозе на территорию РФ:**

Наличие фитосанитарного сертификата, удостоверяющего отсутствие карантинных

**Quarantine pest species detected in regulated Umbelliferae seed products:**

Coriander: *Acroptilon repens*, *Cuscuta* spp., *Solanum rostratum*.

Carrot: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease), *Cuscuta* spp.

Parsley: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease), *Cuscuta* spp.

Root celery: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease).

Leaf celery: *Candidatus Liberibacter solanacearum* (*Candidatus Liberibacter psyllaeus*, Zebra Chip Disease).

Caraway: *Cuscuta* spp., *Cenchrus longispinus*.

Dill: *Cuscuta* spp.

An integral rating of countries exporting Umbelliferae seeds to the Russian Federation was calculated, on the basis of which the percentage of product lots for inspection was determined (see Table 2).

Phytosanitary measures were developed for the import of Umbelliferae seeds:

**In the country of origin:**

Growing products in zones free from quarantine pests. Production of products according to the certification scheme. Monitoring of quarantine pests during the production, transportation and storage of carrot and other Umbelliferae seeds. Fumigation of seed storage facilities upon detection of storage quarantine pests. Inspection of packing stations. Pre-shipment inspection.

**When imported into the Russian Federation:**

A phytosanitary certificate proving the absence of quarantine species of fungi, bacteria, and living pests at all stages of development. Inspection of products and packaging material with sampling. Laboratory testing of product samples. If a quarantine pest is detected in seeds when imported into the Russian Federation, the batch of products must be returned or destroyed.

**In the Russian Federation:**

Phytosanitary monitoring during the growing season and seed storage. If a quarantine pest is detected, take measures to localize and eliminate the outbreak.

A list of countries importing carrot and other Umbelliferae seeds was compiled using data from the “Argus-Fito” Federal State Information System. Export volume of vegetable Umbelliferae seeds for 2017–2020 amounted to 224.9 tons, which is 3.28 times less than imported seed products. In the export structure, the leading positions were occupied by dill seeds – 175.8 tons,

**Табл. 1. Виды КВО, распространенные в странах – экспортерах семян зонтичных культур в Россию, 2020–2022 гг.**

**Table 1. Quarantine pest species spread in countries exporting Umbelliferae seeds into Russia, 2020–2022**

Страна	Country	Зебра чип <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	Горчак ползучий <i>Acroptilon repens</i>	Паслен колючий <i>Solanum rostratum</i>	Ценхрус длинно-колючковый <i>Cenchrus longispinus</i>	Повилки <i>Cuscuta</i> spp.
Германия	Germany	+				
Италия	Italy	+				
Кыргызстан	Kyrgyzstan		+			+
Новая Зеландия	New Zealand	+				
США	USA	+				
Таджикистан	Tajikistan			+	+	+
Узбекистан	Uzbekistan					+
Франция	France	+				

**Табл. 2. Интегральный рейтинг стран – поставщиков семян моркови и других зонтичных культур в Российскую Федерацию**

**Table 2. Integral rating of countries supplying carrot and other Umbelliferae seeds to the Russian Federation**

Страна происхождения продукции	Country of origin	ИР IR	Партий для досмотра, % Lots for inspection, %	Страна происхождения продукции	Country of origin	ИР IR	Партий для досмотра, % Lots for inspection, %
Австрия	Austria	6	80	Китай	China	3	40
Германия	Germany	6	80	КНДР	DPRK	3	40
Испания	Spain	6	80	Кыргызстан	Kyrgyzstan	3	40
Италия	Italy	6	80	Румыния	Romania	3	40
Новая Зеландия	New Zealand	6	80	Таджикистан	Tajikistan	3	40
Португалия	Portugal	6	80	Украина	Ukraine	3	40
Сербия	Serbia	6	80	ЮАР	South Africa	3	40
США	USA	6	80	Армения	Armenia	2	20
Франция	France	6	80	Египет	Egypt	2	20
Япония	Japan	6	80	Молдова	Moldova	2	20
Нидерланды	Netherlands	4	60	Сирия	Syria	2	20
Австралия	Australia	3	40	Чехия	Czech Republic	2	20
Азербайджан	Azerbaijan	3	40	Чили	Chile	2	20
Аргентина	Argentina	3	40	Латвия	Latvia	1	10
Венгрия	Hungary	3	80	Польша	Poland	1	10
Индия	India	3	40	Танзания	Tanzania	1	10
Казахстан	Kazakhstan	3	40	Узбекистан	Uzbekistan	1	10

**Примечание:** ИР – интегральный индекс риска страны-поставщика.

Цветовое распределение степени риска: 1 – низкий риск; 2 – низкий риск; 3 – средний риск; 4 – средний риск; 6 – высокий риск.

**Note:** IR – integral risk index of the supplier country.

Color distribution of risk level: 1 – low risk; 2 – low risk; 3 – medium risk; 4 – medium risk; 6 – high risk.

видов грибов, бактерий, живых особей вредителей во всех стадиях развития. Досмотр продукции и упаковочного материала с отбором образцов. Лабораторное исследование образцов продукции. В случае обнаружения КВО в семенах при ввозе в РФ – возврат или уничтожение партии продукции.

**На территории РФ:**

Фитосанитарный мониторинг в период вегетации и хранения семян. При обнаружении КВО – проведение мероприятий по локализации и ликвидации очага.

Составление перечня стран – импортеров семян моркови и других зонтичных культур было проведено по данным ФГИС «Аргус-Фито». Объем экспорта семян овощных зонтичных культур за 2017–2020 гг. составил 224,9 т, что в 3,28 раза меньше импортированной семенной продукции. В структуре экспорта ведущие позиции занимали семена укропа – 175,8 т, петрушки – 23,3 т и кориандра – 22,0 т. Семян тмина отправлялось на экспорт всего 200 г (см. рис. 4).

Экспорт семян укропа осуществлялся в 13 стран. 95,73% всех поставок (168,3 т) было отправлено в Азербайджан. На долю остальных стран-импортеров приходилось 7,5 т семенной продукции. Объемы экспорта значительно варьировали по годам: больше всего семян отправлялось в 2018 г. – 72,5 т и в 2000 г. – 60,4 т.

parsley – 23.3 tons and coriander – 22.0 tons. Only 200 g of caraway seeds were exported (see Fig. 4).

Dill seeds were exported to 13 countries. 95.73% of all deliveries (168.3 tons) were sent to Azerbaijan. The share of other importing countries accounted for 7.5 tons of seed products. Export volumes varied significantly over the years: the most seeds were sent in 2018 – 72.5 tons and in 2000 – 60.4 tons.

Parsley seeds in 2017–2020 were exported to 6 countries: Ukraine, France, Belarus, Poland, Italy and Kazakhstan. Almost all products were sent to Ukraine – 23.2 tons. In 2018, no products were exported.

All seeds sent for export were of Russian origin. Parsley was grown for seed purposes in the Stavropol Krai and Krasnodar Krai, Astrakhan Oblast and other regions.

In 2020, 0.02 tons of parsley seeds were moved within the country (to Kaliningrad Oblast).

Export of coriander seed material was carried out only in 2020. 22 tons of Russian produced seeds were sent to Azerbaijan.

In 2017–2020 carrot seeds were exported to 9 countries. The leaders in terms of supply volumes

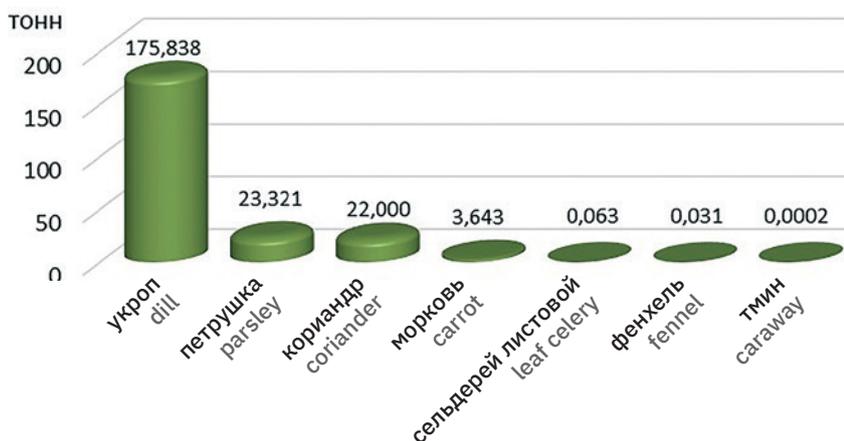


Рис. 4. Объемы экспорта семян зонтичных культур, 2017–2020 гг. (тонны)

Fig. 4. Export volumes of Umbelliferae seeds, 2017–2020 (tons)

Семена петрушки в 2017–2020 гг. были экспортированы в 6 стран: на Украину, во Францию, в Беларусь, Польшу, Италию и Казахстан. Почти вся продукция была отправлена на Украину – 23,2 т. В 2018 г. продукция на экспорт не отправлялась.

Все семена, отправленные на экспорт, были собственного производства. Петрушка на семенные цели выращивалась в Ставропольском и Краснодарском краях, Астраханской области и других регионах.

В 2020 г. 0,02 т семян петрушки было перемещено внутри страны (в Калининградскую область).

Экспорт посевного материала кориандра осуществлялся только в 2020 г. 22 т семян отечественного производства были отправлены в Азербайджан.

В 2017–2020 гг. семена моркови экспортировали в 9 стран. Лидировали по объемам поставок Украина (1,6 т) и Нидерланды (1,4 т). Больше всего семян моркови экспортировали в 2020 г. – 1,7 т.

Семена сельдерея отправляли на экспорт только в 2018 г. в Беларусь в объеме 0,1 т. При этом семена были произведены в Чехии, то есть осуществлен реэкспорт. Собственных семян выращено не было.

Экспорт семян фенхеля для посева проводился только в 2020 г. 0,03 т продукции было отправлено на Украину.

Экспорт семян тмина для посева осуществлялся семенами, выращенными в РФ. Семена в количестве 200 г были отправлены в Беларусь.

Был проведен анализ карантинных перечней стран – импортеров российской семенной продукции зонтичных культур, определены свободные от КВО зоны, на основе экспортного потенциала определен рейтинг стран, импортирующих российские семена, что позволит оптимизировать процедуру экспорта семенного материала (см. табл. 3).

Анализ происхождения семян укропа, отправляемого на экспорт, показал, что в 2017–2020 гг. почти весь объем семенного материала (175,4 т) был произведен в России, что составило 99,7%, остальные 0,5 т были получены из Италии и Китая, то есть доля реэкспорта была незначительной. Семена были выращены в Краснодарском крае, Республике Дагестан, Ставропольском крае, Кемеровской, Астраханской и других областях. Основными производителями семян были Краснодарский край и Республика Дагестан.

were Ukraine (1.6 tons) and the Netherlands (1.4 tons). Most carrot seeds were exported in 2020 – 1.7 tons.

Celery seeds were exported only in 2018 to Belarus in a volume of 0.1 tons. At the same time, the seeds were produced in the Czech Republic, that is, re-export was carried out. No own seeds were grown.

Export of fennel seeds for sowing was carried out only in 2020. 0.03 tons of products were sent to Ukraine.

Export of caraway seeds for sowing was carried out using seeds grown in the Russian Federation. Seeds in the amount of 200 g were sent to Belarus.

An analysis of the quarantine lists of countries importing Russian Umbelliferae seed products was carried out, zones free from quarantine pests were identified, and based on the

Табл. 3. Рейтинг стран – импортеров семян моркови и других зонтичных культур

Table 3. Rating of countries importing carrot and other Umbelliferae seeds

Страна-импортер	Importing country	ЭП	Export potential
Азербайджан	Azerbaijan	3 – средний	3 – medium
Армения	Armenia	3 – средний	3 – medium
Беларусь	Belarus	3 – средний	3 – medium
Италия	Italy	3 – средний	3 – medium
Казахстан	Kazakhstan	3 – средний	3 – medium
Китай	China	3 – средний	3 – medium
Марокко	Morocco	3 – средний	3 – medium
Молдова	Moldova	3 – средний	3 – medium
Нидерланды	Netherlands	3 – средний	3 – medium
Польша	Poland	3 – средний	3 – medium
Сербия	Serbia	3 – средний	3 – medium
Украина	Ukraine	3 – средний	3 – medium
Франция	France	3 – средний	3 – medium
Грузия	Georgia	2 – высокий	2 – high
Исламская Республика Иран	Islamic Republic of Iran	2 – высокий	2 – high
Австралия	Australia	0 – наиболее высокий	0 – highest
Объединенные Арабские Эмираты	United Arab Emirates	0 – наиболее высокий	0 – highest

Примечание: ЭП – экспортный потенциал.

Цветовое распределение экспортного потенциала стран: 0 – наиболее высокий потенциал; 2 – высокий потенциал; 3 – средний потенциал.

Note: Color distribution of countries' export potential: 0 – highest potential; 2 – high potential; 3 – medium potential.

Все семена петрушки, отправленные на экспорт, были отечественного производства. Петрушка на семенные цели выращивалась в Ставропольском крае, Краснодарском крае, Астраханской области и других регионах. Основное количество семян было выращено в Краснодарском крае – 20,02 т.

Анализ происхождения экспортируемых семян моркови показал, что в годы исследования как отправлялись семена собственного производства, так и осуществлялся реэкспорт. Семена производились в Ставропольском крае, Краснодарском крае, Алтайском крае, Челябинской области и других регионах.

Большая часть семян моркови была получена в Ставропольском крае – 1,6 т. Экспорт семян собственного производства значительно варьировал по годам – больше всего их было в 2020 г. – 93,16%. Меньше всего собственных семян отправлялось на экспорт в 2019 г. – 0,24%. Суммарный объем экспорта семян за 2017–2020 гг., произведенных в РФ, составил 50,15%. Реэкспорт осуществлялся из следующих стран: США, Австралия, Польша, Франция, ЮАР, Чили, Чехия. Больше всего семян происходило из США – 1,6 т.

Фитосанитарные меры в странах-импортерах, облегчающие экспорт продукции: семенной материал должен быть выращен в зонах и на участках производства, свободных от карантинных вредных организмов.

Проведен анализ перемещения по территории России импортируемой продукции. В 2017 г. семена моркови поступали в 5 федеральных округов (ФО): Южный, Центральный, Уральский, Северо-Западный и Приволжский. 47,70% объема всей партии поступило в Центральный ФО (лидировали г. Москва, Московская и Тульская области – 40,060 т, или 44,22%). В Южный ФО было распределено 29,58% семян. 17,33% всех объемов семенного материала получил Северо-Западный ФО (г. Санкт-Петербург, Ленинградская и Псковская области). В 2018 г. семена моркови также поступали в 5 ФО: Южный, Центральный, Уральский, Северо-Западный и Приволжский. 43,74% объема всей партии поступило в Центральный ФО (лидировали г. Москва, Московская и Тульская область – 20,3 т, или 42,67%). В Южный ФО поступило 29,84% семян. 23,06% всех объемов семенного материала получил Северо-Западный ФО (г. Санкт-Петербург, Ленинградская и Псковская области). В 2019 г. импортные семена поступали в Центральный, Южный, Северо-Западный, Северо-Кавказский и Сибирский ФО. Ведущие позиции занимали Центральный – 37,2 т, или 53,70% всех поставок, и Южный – 33,84%.

Импортный материал семян укропа в 2017 г. поступал в 7 регионов РФ. 65,95%, или 86,9 т всех семян, были получены Центральным федеральным округом. На долю Северо-Западного ФО приходилось 30,50% всех семян. В 2018 г. продукция поступала в 6 федеральных округов: Северо-Западный, Центральный, Южный, Сибирский, Дальневосточный и Северо-Кавказский. При этом 62,92% получил Северо-Западный ФО, Центральный – 14,7 т, или 29,14%. Поступавший в 2019 г. в РФ семенной материал направлялся в 4 ФО. Лидировали по объемам поставок Центральный и Южный ФО – 28,0 т и 5,2 т соответственно.

export potential, a rating of countries importing Russian seeds was determined, which will allow optimizing the procedure for exporting seed material (see Table 3).

An analysis of the origin of dill seeds exported showed that in 2017–2020 almost the entire volume of seed material (175.4 tons) was produced in Russia, which amounted to 99.7%, the remaining 0.5 tons were received from Italy and China, that is, the share of re-export was insignificant. The seeds were grown in Krasnodar Krai, the Republic of Dagestan, Stavropol Krai, Kemerovo Oblast, Astrakhan Oblast and other regions. The main seed producers were Krasnodar Krai and the Republic of Dagestan.

All parsley seeds sent for export were produced in Russia. Parsley was grown for seed purposes in Stavropol Krai, Krasnodar Krai, Astrakhan Oblast and other regions. The main amount of seeds was grown in Krasnodar Krai – 20.02 tons.

An analysis of the origin of exported carrot seeds showed that during the years of the study both seeds of own production were sent and re-exports were carried out. Seeds were produced in Stavropol Krai, Krasnodar Krai, Altai Krai, Chelyabinsk Oblast and other regions.

Most of the carrot seeds were obtained in Stavropol Krai – 1.6 tons. Exports of seeds of own production varied significantly over the years – most of them were in 2020 – 93.16%. The least amount of own seeds was exported in 2019 – 0.24%. The total export volume of seeds produced in the Russian Federation for 2017–2020 amounted to 50.15%. Re-export was carried out from the following countries: USA, Australia, Poland, France, South Africa, Chile, Czech Republic. Most seeds came from the USA – 1.6 tons.

Phytosanitary measures in importing countries to facilitate the export of products: seed material must be grown in production areas and areas free from quarantine pests.

An analysis of the movement of imported products across Russia was carried out. In 2017, carrot seeds were supplied to 5 federal districts (FD): Southern, Central, Ural, Northwestern and Volga. 47.70% of the volume of the entire batch arrived in the Central Federal District (Moscow, Moscow Oblast and Tula Oblast were in the lead – 40.060 tons, or 44.22%). 29.58% of the seeds were distributed to the Southern Federal District. 17.33% of all volumes of seed material were received by the Northwestern Federal District (St. Petersburg, Leningrad Oblast and Pskov Oblast). In 2018, carrot seeds were also supplied to 5 federal districts: Southern, Central, Ural, Northwestern and Volga. 43.74% of the volume of the entire batch arrived in the Central Federal District (Moscow, Moscow Oblast and Tula Oblast were in the lead – 20.3 tons, or 42.67%). The Southern Federal District received 29.84% of the seeds. 23.06% of all volumes of seed material were received by the Northwestern Federal District (St. Petersburg, Leningrad Oblast and Pskov Oblast). In 2019, imported seeds arrived in the Central, Southern, Northwestern, North Caucasian and Siberian Federal Districts. The leading positions were occupied by Central – 37.2 tons, or 53.70% of all supplies, and Southern – 33.84%.

Импортированный семенной материал кориандра в 2017 г. распределялся следующим образом: Северо-Западный ФО – 24,04 т, Центральный – 19,2 т, Южный – 11,4 т. Доля остальных ФО была незначительной. В 2018 г. соотношение объемов поставок семенного материала по сравнению с предыдущим годом изменилось: лидировали Южный (53,3%), Центральный (23,95%) и Северо-Западный (20,17%) федеральные округа. В 2019 г. поставки в Южный ФО возросли до 19,5 т, что составило 85,71% всех поступлений семенного материала. Уменьшились поставки в Центральный ФО, в Северо-Западный поступлений не было.

Семенная продукция петрушки в 2017 г. поставлялась в 7 ФО: Центральный, Северо-Западный, Южный, Уральский, Сибирский, Дальневосточный и Приволжский. Больше всего семян поступило в Центральный и Северо-Западный федеральные округа. В 2018 г. – в 5 ФО, из них больше всего было отправлено в Центральный и Северо-Западный. В 2019 г. по-прежнему лидером по объемам поставок импортных семян петрушки являлся Центральный ФО (86,98%).

Семена листового сельдерея в 2017 г. поступали во Владимирскую область (87,06% поставок), а также регионы Южного ФО (12,93%). В 2018 г. поставки осуществлялись в 4 ФО: Северо-Западный, Центральный, Южный, Дальневосточный. Доминировал Северо-Западный ФО. В 2019 г. импортные семена получали Северо-Западный, Центральный и Южный ФО, в первые 2 поступил почти весь объем семенного материала.

В 2017–2019 гг. семена пастернака поступали в Центральный, Северо-Западный и Южный ФО. Больше всего поставок было в Северо-Западный ФО.

Проанализированы данные результатов фитосанитарного мониторинга, проводимого Россельхознадзором для установления фитосанитарных зон, определены свободные от КВО зоны (URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/monitoring>).

Определены КВО, связанные с продукцией и распространенные на территории РФ:

- 1) *Ambrosia artemisiifolia* – амброзия полынно-лиственная;
- 2) *Cuscuta* spp. (*Cuscuta campestris* – повилика полевая; *Cuscuta epithymum* – повилика тимьяновая и другие);
- 3) *Acroptilon repens* – горчак ползучий;
- 4) *Solanum rostratum* – паслен колючий;
- 5) *Cenchrus longispinus* – ценхрус длинноколючковый.

Фитосанитарные меры, рекомендуемые в процессе выращивания и последующего перемещения продукции семян моркови и других зонтичных культур:

- выращивание продукции в зонах и на участках производства, свободных от КВО;
- агротехнические меры: вспашка, культивации, боронование для борьбы с сорняками;
- применение гербицидов во время отрастания сорняков;
- фитосанитарная сертификация продукции;
- предотгрузочный досмотр и проведение лабораторной экспертизы;
- тщательный предэкспортный визуальный досмотр груза.

In 2017, imported dill seed material arrived in seven regions of the Russian Federation. 65.95%, or 86.9 tons of all seeds, were received by the Central Federal District. The Northwestern Federal District accounted for 30.50% of all seeds. In 2018, products were supplied to six federal districts: Northwestern, Central, Southern, Siberian, Far Eastern and North Caucasian. At the same time, the Northwestern Federal District received 62.92%, the Central Federal District received 14.7 tons, or 29.14%. The seed material received in the Russian Federation in 2019 was sent to 4 federal districts. The Central and Southern Federal Districts were leaders in terms of supply volumes – 28.0 tons and 5.2 tons, respectively.

Imported coriander seed material in 2017 was distributed as follows: Northwestern Federal District – 24.04 tons, Central – 19.2 tons, Southern – 11.4 tons. The share of other federal districts was insignificant. In 2018, the ratio of seed supply volumes changed compared to the previous year: Southern (53.3%), Central (23.95%) and Northwestern (20.17%) federal districts were in the lead. In 2019, supplies to the Southern Federal District increased to 19.5 tons, which amounted to 85.71% of all seed supplies. Supplies to the Central Federal District decreased, there were no supplies to the Northwestern Federal District.

In 2017, parsley seed products were supplied to 7 federal districts: Central, Northwestern, Southern, Ural, Siberian, Far Eastern and Volga. Most of the seeds came to the Central and Northwestern Federal Districts. In 2018 – to 5 federal districts, of which the majority were sent to the Central and North-Western. In 2019, the leader in the volume of supplies of imported parsley seeds was still the Central Federal District (86.98%).

Leaf celery seeds in 2017 came to Vladimir Oblast (87.06% of supplies), as well as the regions of the Southern Federal District (12.93%). In 2018, deliveries were made to 4 federal districts: Northwestern, Central, Southern, Far Eastern. The Northwestern Federal District dominated. In 2019, imported seeds were received by the Northwestern, Central and Southern Federal Districts; the first 2 received almost the entire volume of seed material.

In 2017–2019 parsnip seeds were supplied to the Central, Northwestern and Southern Federal Districts. Most deliveries were to the Northwestern Federal District.

Data from the results of phytosanitary monitoring carried out by Rosselkhoz nadzor to establish phytosanitary zones were analyzed, and zones free from quarantine pests were identified (URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/monitoring>).

Quarantine pests associated with products and distributed in the Russian Federation were determined:

- 1) *Ambrosia artemisiifolia*;
- 2) *Cuscuta* spp. (*Cuscuta campestris*; *Cuscuta epithymum*);
- 3) *Acroptilon repens*;
- 4) *Solanum rostratum*;
- 5) *Cenchrus longispinus*.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена оценка фитосанитарных мер управления рисками, связанными с импортированием, экспортированием и перемещением семян моркови и других зонтичных культур, выполненная по утвержденной ВНИИКР методике для текущей структуры рынка данной продукции и актуальных фитосанитарных рисков.

Оценка фитосанитарных мер управления риском, связанным с импортированием семян моркови и других зонтичных культур, позволила проанализировать существующий риск и разработать систему мероприятий по его снижению.

Высокий риск представляют семена зонтичных культур, импортируемые в Российскую Федерацию из десяти стран: Австрия, Германия, Испания, Италия, Новая Зеландия, Португалия, Сербия, США, Франция, Япония. Интегральный рейтинг этих стран составил 6, что свидетельствует о необходимости досмотра 80% партий семенного материала.

Средний рейтинг имеют 14 стран: Нидерланды (интегральный индекс – 4, досмотр 60% партий); Австралия, Азербайджан, Аргентина, Венгрия, Индия, Казахстан, Китай, КНДР, Кыргызстан, Румыния, Таджикистан, Украина, ЮАР (интегральный индекс – 3, необходимо досматривать 40% партий продукции).

Низкий – у десяти стран: Армения, Египет, Молдова, Сирия, Чехия, Чили (интегральный индекс – 2, необходим досмотр 20% партий); Латвия, Польша, Танзания, Узбекистан (интегральный индекс – 1, необходим досмотр 10% партий).

Для каждой страны предложены фитосанитарные меры. Разработанная на основе учета этих рисков система фитосанитарных мер может существенно повысить эффективность мероприятий по предотвращению заноса опасных вредных организмов на территорию Российской Федерации.

В результате проведенной оценки фитосанитарных мер управления рисками, связанными с экспортированием продукции, проанализирован экспортный потенциал Российской Федерации для семян зонтичных культур с учетом фитосанитарных требований стран-импортеров. Определены зоны, свободные от карантинных вредных организмов, ограниченно распространенных на территории Российской Федерации, а также составлен перечень фитосанитарных мер, позволяющих экспортировать данную продукцию.

Было проанализировано 17 стран – импортеров продукции по величине экспортного потенциала. Большинство из них имеют средний экспортный потенциал – 13 стран (Азербайджан, Армения, Беларусь, Италия, Казахстан, Китай, Марокко, Молдова, Нидерланды, Польша, Сербия, Украина, Франция), у Грузии и Ирана высокий экспортный потенциал, и 2 страны – Австралия и ОАЭ – отнесены к государствам с наиболее высоким экспортным потенциалом, то есть в них разрешен свободный ввоз продукции, так как в фитосанитарных требованиях этих стран отсутствуют виды, распространенные на территории Российской Федерации.

При оценке фитосанитарных мер управления рисками, связанными с перемещением

Phytosanitary measures recommended during the cultivation and subsequent movement of carrot and other Umbelliferae seed products:

- growing products in zones and production areas free from quarantine pests;
- agrotechnical measures: plowing, cultivation, harrowing to control weeds;
- use of herbicides during weed growth;
- phytosanitary certification of products;
- pre-shipment inspection and laboratory examination;
- thorough pre-export visual inspection of cargo.

## CONCLUSION

An assessment of pest risk management measures associated with the import, export and movement of carrot and other Umbelliferae seeds was carried out according to the methodology approved by VNIKR for the current structure of the market for these products and current pest risks.

An assessment of pest risk management measures associated with the import of carrot and other Umbelliferae seeds made it possible to analyze the existing risk and develop a system of measures to reduce it.

The Umbelliferae seeds imported into the Russian Federation from 10 countries are at high risk: Austria, Germany, Spain, Italy, New Zealand, Portugal, Serbia, USA, France, Japan. The integral rating of these countries was 6, which indicates the need to inspect 80% of seed batches.

14 countries have a medium rating: the Netherlands (integral index – 4, inspection of 60% of shipments); Australia, Azerbaijan, Argentina, Hungary, India, Kazakhstan, China, North Korea, Kyrgyzstan, Romania, Tajikistan, Ukraine, South Africa (integral index – 3, it is necessary to inspect 40% of product batches).

Low – in ten countries: Armenia, Egypt, Moldova, Syria, Czech Republic, Chile (integral index – 2, inspection of 20% of shipments is required); Latvia, Poland, Tanzania, Uzbekistan (integral index – 1, inspection of 10% of batches is required).

Phytosanitary measures are proposed for each country. A system of phytosanitary measures developed based on taking into account these risks can significantly increase the effectiveness of measures to prevent the introduction of dangerous pests into the Russian Federation.

As a result of the assessment of pest risk management measures associated with the export of products, the export potential of the Russian Federation for Umbelliferae seeds was analyzed taking into account the phytosanitary requirements of importing countries. Zones free from quarantine pests with limited distribution on the territory of the Russian Federation were identified, and a list of phytosanitary measures was compiled to allow the export of these products.

17 countries that imported products were analyzed based on the size of their export potential. Most of them have medium export potential – 13 countries (Azerbaijan, Armenia, Belarus, Italy, Kazakhstan, China, Morocco, Moldova, the Netherlands, Poland, Serbia, Ukraine, France), Georgia and Iran have high export

рассматриваемой продукции внутри границ Российской Федерации, были определены: перечень ограниченно распространенных карантинных объектов (5 видов); зоны производства семян зонтичных культур в России; зоны распространения карантинных объектов; зоны, свободные от карантинных объектов. Соотнесение зон распространения карантинных вредителей и патогенов с зонами производства продукции позволяет определить зоны, подверженные опасности заражения. В работе приведены фитосанитарные меры, выполнение которых может исключить дальнейшее распространение в Российской Федерации карантинных объектов, связанных с семенами зонтичных культур.

В результате проведенной оценки фитосанитарных мер управления рисками, связанными с импортированием, экспортированием и перемещением семян моркови и других зонтичных культур, была разработана система управления фитосанитарными рисками, связанными с данной продукцией, обеспечивающая карантинную безопасность территории Российской Федерации и повышение экспортного потенциала страны.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ 19 «Руководство по перечням регулируемых вредных организмов», 2003, 19 с.
2. Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ 2 «Структура анализа фитосанитарного риска», 2007, 20 с.
3. Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ 11 «Анализ фитосанитарного риска для карантинных вредных организмов», 2013, 45 с.
4. Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ 38 «Международное перемещение семян». МККЗР, 2017, 26 с.
5. Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 31000-2010 «Менеджмент риска. Принципы и руководство», 2018, 25 с.
6. Региональные стандарты по фитосанитарным мерам. Стандарт ЕОКЗР РМ 5/6 (1) «Руководство по анализу фитосанитарного риска: процесс выбора приоритетов в отношении инвазивных чужеродных растений», 2016, 28 с.
7. EPPO Standards PM 5/5 (1) «Guidelines on Pest Risk Analysis», 2022, 49 p.
8. EPPO Bulletin PM 7/13 (2) «*Trogoderma granarium*», 2013. 43 (3), 431–448 p.
9. Final review of import conditions for apiaceous vegetable seeds for sowing. March 2021, 244 p.
10. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран [Электронный ресурс]. URL: <http://www.agroatlas.ru/> (дата обращения: 23.06.2020).
11. База данных Международной федерации по семеноводству [Электронный ресурс]. URL: <https://pestlist.worldseed.org/public/pestlist.jsp> (дата обращения: 23.06.2020).
12. Россельхознадзор. Мониторинг [Электронный ресурс]. URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/monitoring> (дата обращения: 05.07.2022).
13. Таможенная статистика внешней торговли РФ [Электронный ресурс]. URL: <http://stat.customs.ru> (дата обращения: 23.06.2020).

potential, and two countries – Australia and the UAE are classified as countries with the highest export potential, that is, they allow free import of products, since the phytosanitary requirements of these countries do not include species common in the Russian Federation.

When assessing phytosanitary measures to manage risks associated with the movement of the products in question within the borders of the Russian Federation, the following were determined: a list of limitedly present quarantine pests (5 species); zones for the production of Umbelliferae seeds in Russia; zones of quarantine pests distribution; zones free from quarantine pests. Correlating the distribution zones of quarantine pests and pathogens with production zones allows us to identify zones at risk of infection. The work presents phytosanitary measures, the implementation of which can prevent the further spread of quarantine pests associated with Umbelliferae seeds in the Russian Federation.

As a result of the assessment of pest risk management measures associated with the import, export and movement of carrot and other Umbelliferae seeds, a system for managing pest risks associated with these products was developed, ensuring quarantine safety of the territory of the Russian Federation and increasing the export potential of the country.

#### REFERENCES

1. International standard for phytosanitary measures ISPM 19 “Guidelines on lists of regulated pests”, 2003, 19 p.
2. International standard for phytosanitary measures ISPM 2 “Framework for pest risk analysis”, 2007, 20 p.
3. International standard for phytosanitary measures ISPM 11 “Pest risk analysis for quarantine pests”, 2013, 45 p.
4. International standard for phytosanitary measures ISPM 38 “International movement of seeds”. IPPC, 2017, 26 p.
5. National standard of the Russian Federation GOST R ISO 31000-2010 “Risk management. Principles and leadership”, 2018, 25 p.
6. Regional standards for phytosanitary measures. EPPO Standard PM 5/6 (1) “Guidelines on pest risk analysis: prioritization process for invasive alien plants”, 2016, 28 p.
7. EPPO Standards PM 5/5 (1) “Guidelines on Pest Risk Analysis”, 2022, 49 p.
8. EPPO Bulletin PM 7/13 (2) “*Trogoderma granarium*”, 2013. 43 (3), 431–448 p.
9. Final review of import conditions for apiaceous vegetable seeds for sowing. March 2021, 244 p.
10. Agroecological atlas of Russia and neighboring countries [Electronic resource]. URL: <http://www.agroatlas.ru/> (last accessed: 23.06.2020).
11. Database of the International Seed Federation [Electronic resource]. URL: <https://pestlist.worldseed.org/public/pestlist.jsp> (last accessed: 23.06.2020).
12. Rosselkhoz nadzor. Monitoring [Electronic resource]. URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/monitoring> (last accessed: 05.07.2022).

14. ФГИС «Аргус-Фито» [Электронный ресурс]. URL: <http://argusfito.fitorf.ru> (дата обращения: 20.05.2021).

15. Atlas of Living Australia [Электронный ресурс]. URL: <https://bie.ala.org.au> (дата обращения: 14.08.2020).

16. CABI Compendium [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cabidigitallibrary.org/journal/cabi-compendium/> (дата обращения: 26.09.2020).

17. CABI Plantwise [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cabi.org/projects/plantwise/> (дата обращения: 26.09.2020).

18. EPPO Global Database [Электронный ресурс]. URL: <https://gd.eppo.int/> (дата обращения: 26.09.2020).

19. Fungi of Great Britain and Ireland [Электронный ресурс]. URL: <http://fungi.myspecies.info/> (дата обращения: 23.06.2020).

20. Global Biodiversity Information Facility Free and open access to biodiversity data [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gbif.org/> (дата обращения: 09.09.2020).

21. Global invasive species database [Электронный ресурс]. URL: <http://www.iucngisd.org/gisd> (дата обращения: 23.06.2020).

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ

**Валеева Наталья Григорьевна**, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник научно-методического отдела Южного филиала ФГБУ «ВНИИКР», г. Симферополь, Республика Крым, Россия; *ORCID 0000-0003-4002-7630*; *e-mail: nvaleeva@mail.ru*.

13. Customs statistics of foreign trade of the Russian Federation [Electronic resource]. URL: <http://stat.customs.ru> (last accessed: 23.06.2020).

14. FSIS “Argus-Fito” [Electronic resource]. URL: <http://argusfito.fitorf.ru> (last accessed: 20.05.2021).

15. Atlas of Living Australia [Electronic resource]. URL: <https://bie.ala.org.au> (last accessed: 14.08.2020).

16. CABI Compendium [Electronic resource]. URL: <https://www.cabidigitallibrary.org/journal/cabi-compendium/> (last accessed: 26.09.2020).

17. CABI Plantwise [Electronic resource]. URL: <https://www.cabi.org/projects/plantwise/> (last accessed: 26.09.2020).

18. EPPO Global Database [Electronic resource]. URL: <https://gd.eppo.int/> (last accessed: 26.09.2020).

19. Fungi of Great Britain and Ireland [Electronic resource]. URL: <http://fungi.myspecies.info/> (last accessed: 23.06.2020).

20. Global Biodiversity Information Facility Free and open access to biodiversity data [Electronic resource]. URL: <https://www.gbif.org/> (last accessed: 09.09.2020).

21. Global invasive species database [Electronic resource]. URL: <http://www.iucngisd.org/gisd> (last accessed: 23.06.2020).

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

**Natalya Valeeva**, PhD in Agriculture, Researcher, Research and Methodology Department of the Southern Branch of FGBU “VNIICR”, Simferopol, Republic of Crimea, Russia; *ORCID 0000-0003-4002-7630*; *e-mail: nvaleeva@mail.ru*.

## Изоляция возбудителя бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae* из семян

\* ДЕСЯТЕРИК А.А.<sup>1</sup>, СЛОВАРЕВА О.Ю.<sup>2</sup>, КОНОНОВА Е.П.<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия, 140150

<sup>1</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия, 127434

<sup>1</sup> e-mail: anastasiya.10.00@mail.ru

<sup>2</sup> e-mail: slovareva.olga@gmail.com

<sup>3</sup> e-mail: catamont@yandex.ru

### АННОТАЦИЯ

Бурая бактериальная гниль влагалища листа злаковых культур – бактериальное заболевание, которому подвержены посевы пшеницы, риса, кукурузы и сорго практически во всех регионах, где их выращивают. Возбудителем является бактерия вида *Pseudomonas fuscovaginae* (ex Tanii, Miyajima and Akita, 1976) Miyajima, Tanii and Akita (1983), имеющая карантинный статус для ряда стран, которые импортируют пшеницу из России. Для того чтобы улучшить процесс диагностики бактерии *Pseudomonas fuscovaginae* в фитосанитарных лабораториях, требуется разработка метода изоляции культуры из семян пшеницы. В исследовании растительные экстракты пшеницы, полученные в результате пробоподготовки, инокулировали суспензиями *P. fuscovaginae* в различных концентрациях и высевали на питательную среду R2A. Колонии *P. fuscovaginae*, выросшие на чашках со средой R2A, тестировали методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), чтобы установить зависимость порогового цикла от концентрации бактерии в пробе. Установлено, что изоляция *P. fuscovaginae* возможна в случае содержания в пробе бактерии в концентрации  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл и выше, что соответствует пороговому циклу флуоресценции (Ct) 32,0 на амплификаторе «ДТпрайм 5М6» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и (Ct) 31,5 на амплификаторе CFX (Bio-Rad, США) при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» (ООО «Синтол», Россия). Посев следует выполнять истощающим способом на среду R2A, используя 20 мкл концентрированной вытяжки семян, и осуществлять поиск колоний *P. fuscovaginae* спустя 3–7 суток после посева. Эта методика рекомендована для проведения исследований в лабораториях в области фитосанитарии и карантина растений.

## Isolation of sheath brown rot pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* from seeds

\* ANASTASIA A. DESYATERIK<sup>1</sup>, OLGA YU. SLOVAREVA<sup>2</sup>, ELENA P. KONONOVA<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup> FGBU “All-Russian Plant Quarantine Center” (FGBU “VNI IKR”), Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia, 140150

<sup>1</sup> Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia, 127434

<sup>1</sup> e-mail: anastasiya.10.00@mail.ru

<sup>2</sup> e-mail: slovareva.olga@gmail.com

<sup>3</sup> e-mail: catamont@yandex.ru

### ABSTRACT

Sheath brown rot is a bacterial disease affecting wheat, rice, corn and sorghum in almost all regions where they are grown. The causative agent is a bacterium of the species *Pseudomonas fuscovaginae* (ex Tanii, Miyajima and Akita, 1976) Miyajima, Tanii and Akita (1983), of quarantine status for some countries importing Russian wheat. To enhance the diagnosis of the bacterium *Pseudomonas fuscovaginae* in phytosanitary laboratories, the development of a method for isolating a culture from wheat seeds is required. In the study, wheat plant extracts obtained as a result of sample preparation were inoculated with *P. fuscovaginae* suspensions in various concentrations and sown on R2A nutrient medium. *P. fuscovaginae* colonies grown on plates with R2A medium were tested by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) to determine the dependence of the threshold cycle on the bacteria concentration in the sample. It was determined that *P. fuscovaginae* isolation is possible if the sample contains bacteria in concentration  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml and higher, which corresponds to a threshold fluorescence cycle (Ct) of 32.0 on the DTprime 5M6 cycler (DNA-Technology, Russia) and (Ct) 31.5 on the CFX cycler (Bio-Rad, USA) when using the “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” kit (Syntol, Russia). Sowing should be done in a depleting manner on R2A medium using 20 µl of concentrated seed extract and searching for colonies *P. fuscovaginae* 3–7 days after sowing. This technique is recommended for conducting research in laboratories in the field of phytosanitary and plant protection.

**Ключевые слова.** Фитосанитария, молекулярно-генетические методы, диагностика, ПЦР, культурально-морфологические методы, морфология бактериальных колоний, пшеница, потенциальный ущерб сельскохозяйственной продукции.

## ВВЕДЕНИЕ

**В**озбудитель бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae* (ex Tanii, Miyajima and Akita, 1976) Miyajima, Tanii and Akita (1983) регулируется фитосанитарными требованиями стран – импортеров пшеницы. Египет и Пакистан импортируют зерно и предъявляют требования к состоянию ввозимой продукции. Одним из важных требований является отсутствие в партиях зерна возбудителя бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae*. В эти страны, по данным Федеральной государственной информационной службы (ФГИС) «Аргус-Фито», в 2022 г. Россия экспортировала 6,6 млн тонн пшеницы (ФГИС, 2023).

О *Pseudomonas fuscovaginae* впервые сообщили как о возбудителе бурой бактериальной гнили влагалища листа риса в 1976 г. на севере Японии. В дальнейшем бактерию выделяли из растений кукурузы (*Zea mays*), сорго (*Sorghum bicolor*) и пшеницы (*Triticum aestivum*) с типичными симптомами бурой гнили влагалища листа. Бактерия классифицируется в пределах царства бактерий, типа Proteobacteria, класса Gammaproteobacteria, отряда Pseudomonadales, семейства Pseudomonadaceae, рода *Pseudomonas*, вида *Pseudomonas fuscovaginae*. Бактерия является грамотрицательной, не образует споры, клетки имеют форму палочек с закругленными концами, размером 0,5–0,8 x 2,0–3,5 мкм. Клетки располагаются поодиночке или парами, подвижны, двигательная способность обусловливается наличием от одного до четырех полярных жгутиков. Образует на питательном агаре белые или светло-коричневые полупрозрачные гладкие блестящие приподнятые колонии с ровным краем, диаметр которых на 4–5-е сутки культивирования составляет 3–5 мм (González et al., 2017).

Основным способом распространения *P. fuscovaginae* являются инфицированные семена (Tambong, 2022). Чаще всего проростки из таких семян погибают. *P. fuscovaginae* способна колонизировать все растение как эндофит. Если проросток выживает, *P. fuscovaginae* находится в эпифитном состоянии до стадии выхода в трубку. На этой стадии происходит заражение колоса, что впоследствии приводит к образованию зараженных семян или стерильных колосков. Распространение *P. fuscovaginae* может вызывать серьезные экономические потери в растениеводстве из-за ухудшения качества продукции и снижения урожайности пшеницы. Воздействие *P. fuscovaginae* на урожайность сельскохозяйственных культур связано с тем, что вызывает стерильность зерна и влияет на его качество. Это

**Key words.** Phytosanitary, molecular genetic methods, diagnosis, PCR, cultural and morphological methods, morphology of bacterial colonies, wheat, potential damage to agricultural products.

## INTRODUCTION

**S**heath brown rot pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* (ex Tanii, Miyajima and Akita, 1976) Miyajima, Tanii and Akita (1983) is regulated by the phytosanitary requirements of wheat importing countries. Egypt and Pakistan import grain and have requirements for the condition of imported products. One of the important requirements is the absence of *Pseudomonas fuscovaginae* in grain batches. According to the Federal State Information Service (FSIS) Argus-Fito, Russia exported 6.6 million tons of wheat in 2022 to these countries (FSIS, 2023).

*Pseudomonas fuscovaginae* was first reported as the pathogen of rice sheath brown rot in 1976 in the north of Japan. Later, the bacterium was isolated from maize (*Zea mays*), sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*) with typical symptoms of sheath brown rot. The bacterium is classified within the kingdom Bacteria, phylum Proteobacteria, class Gammaproteobacteria, order Pseudomonadales, family Pseudomonadaceae, genus *Pseudomonas*, species *Pseudomonas fuscovaginae*. The bacterium is gram-negative, does not form spores, the cells have the shape of rods with rounded ends, measuring 0.5–0.8 x 2.0–3.5 μm. The cells are located singly or in pairs, are mobile, and their motor ability is determined by the presence of one to four polar flagella. Forms on nutrient agar white or light brown translucent smooth shiny raised colonies with a smooth edge, the diameter of which on the 4<sup>th</sup>–5<sup>th</sup> day of cultivation is 3–5 mm (González et al., 2017).

One of the main pathways for *P. fuscovaginae* are infected seeds (Tambong, 2022). Most often, seedlings from such seeds die. *P. fuscovaginae* is capable of colonizing the entire plant as an endophyte. If the seedling survives, *P. fuscovaginae* is in an epiphytic state until the stage of eruption into a tube. At this stage, infection of the ear occurs, which subsequently leads to the formation of infected seeds or sterile spikelets. The spreading of *P. fuscovaginae* can cause serious economic losses in crop production due to deterioration in product quality and reduced wheat yields. The influence of *P. fuscovaginae* on crop yields is due to the fact that it causes grain sterility and affects its quality. This is expressed in unfilled grain and spotting. All of the above has a negative impact on the subsequent use of grain as seed material (Cottyn, 2003). Due to the high prevalence of the bacterium, rice yield losses were up to 58% in Japan (Jaunet et al., 1996), 72.2% in Indonesia and 100% in Madagascar (Razak et al., 2009). *P. fuscovaginae* is capable of causing sheath brown rot on wheat,

выражено в незаполненности зерна и пятнистости. Все вышеперечисленное оказывает негативное влияние на последующее использование зерна в качестве семенного материала (Cottyn, 2003). Из-за высокой распространенности бактерии потери урожая риса составили до 58% в Японии (Jaunet et al., 1996), 72,2% в Индонезии и 100% на Мадагаскаре (Razak et al., 2009). *P. fuscovaginae* способна вызывать бурую бактериальную гниль влагалища листа на растениях пшеницы, кукурузы, сорго и риса (Patel et al., 2012). Она распространилась практически во всех регионах, где выращивают рис, а также зарегистрирована на Филиппинах, в Индонезии, Непале, Китае и Иране. С целью контроля за фитосанитарным состоянием зерна необходимо проводить лабораторную диагностику проб каждой партии. Это позволяет выявить наличие бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур. Выявление и идентификация возбудителей бактериозов требуют применения специальных нормативных документов, регламентирующих процесс лабораторного исследования. Нормативные документы по выявлению и идентификации *P. fuscovaginae* из зерна пшеницы не разработаны.

В научных публикациях описаны случаи выявления *P. fuscovaginae* в больных растениях риса. Путем смывов с зараженных растений и культивирования на полуселективной среде (KBS), основанной на модификации среды King B с добавлением казаминовых кислот и пяти антибиотиков (Rott et al., 1989), ученым удалось выделить чистую культуру возбудителя бурой бактериальной гнили влагалища листа пшеницы. Бактерия была идентифицирована с помощью полифазного подхода, сочетающего биохимические, физиологические и фенотипические тесты, анализ патогенности, иммунодиагностику и молекулярную диагностику с использованием специфических праймеров (González et al., 2017).

Для того чтобы эффективно применять метод изоляции культуры, необходимо установить критерий его применимости. Он основывается на тестировании образцов ДНК методом ПЦР-РВ с последующим установлением зависимости порогового цикла от концентрации бактерии в пробе.

Целью настоящей работы являлась разработка метода изоляции культуры *Pseudomonas fuscovaginae* из семян пшеницы и установление критерия его применимости.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования было зерно пшеницы, свободное от *P. fuscovaginae*, и штамм 0335 *P. fuscovaginae* из коллекции ФГБУ «ВНИИКР». Исследование проводили в июне 2023 г.

Пробоподготовку выполняли по уже оптимизированной методике, которая заключалась в замачивании лабораторной пробы пшеницы в фосфатно-солевом буфере, обработке на лопаточном гомогенизаторе и 2-этапном центрифугировании полученной пробы (Мувинги и др., 2022). Растительные экстракты инокулировали суспензиями *P. fuscovaginae*.

Для приготовления суспензий использовали 2-суточную культуру *P. fuscovaginae*. Для посева

corn, sorghum and rice plants (Patel et al., 2012). It has spread to almost all rice-growing regions and has also been reported in the Philippines, Indonesia, Nepal, China and Iran. In order to control the phytosanitary condition of grain, it is necessary to carry out laboratory diagnosis of samples of each batch. This makes it possible to detect the presence of sheath brown rot of cereal crops. Detection and identification of pathogens of bacteriosis require the use of special regulatory documents for the process of laboratory research. Regulatory documents on detection and identification of *P. fuscovaginae* from wheat grain are not developed.

Scientific publications describe cases of *P. fuscovaginae* detection in diseased rice plants. By means of washings from infected plants and cultivation on a semi-selective medium (KBS), based on a modification of King B medium with the addition of casamino acids and five antibiotics (Rott et al., 1989), scientists were able to isolate a pure culture of the causative agent of wheat leaf sheath brown rot. The bacterium was identified using a polyphasic approach combining biochemical, physiological and phenotypic tests, pathogenicity assays, immunodiagnostics and molecular diagnostics using specific primers (González et al., 2017).

In order to effectively apply the culture isolation method, it is necessary to establish a criterion for its applicability. It is based on testing DNA images using RT-PCR followed by establishing the dependence of the threshold cycle on the concentration of bacteria in the sample.

The purpose of this work was to develop a method for isolating the *Pseudomonas fuscovaginae* culture from wheat seeds and establishing a criterion for its applicability.

### MATERIALS AND METHODS

The research material was wheat grain free from *P. fuscovaginae*, and strain 0335 *P. fuscovaginae* from the collection of FGBU "VNIICR". The study was conducted in June 2023.

Sample preparation was carried out according to an already optimized method, which consisted of soaking a laboratory wheat sample in phosphate-buffered saline, processing on a paddle homogenizer and 2-stage centrifugation of the resulting sample (Muvingi et al., 2022). Plant extracts were inoculated with *P. fuscovaginae* suspensions.

A 2-day culture was used to prepare *P. fuscovaginae* suspensions. For inoculation, we used ready-made R2A medium (HiMedia, India) with the addition of 5 g of agar per 1 liter of medium. Bacterial suspensions were prepared in 1.5 ml microtubes using sterile distilled water. The prepared bacterial suspensions were immediately used to infect laboratory samples of wheat seeds.

The concentration of bacteria in the prepared suspensions was determined by the Koch method (Fedorenko, Zemlyanskaya, 2015), by sowing 50 µl by stretching onto 4 Petri dishes using a Drigalsky spatula. We used 3, 4, 5 and 6 dilutions of *P. fuscovaginae* pure culture in sterile distilled water. Colonies were counted after 7 days of incubation of the plates at 25 °C in an incubator.

применяли готовую среду R2A (HiMedia, Индия) с добавлением 5 г агара на 1 л среды. Суспензии бактерии готовили в микропробирках объемом 1,5 мл, используя стерильную дистиллированную воду. Приготовленные бактериальные суспензии сразу применяли для заражения лабораторных проб семян пшеницы.

Концентрацию бактерий в приготовленных суспензиях определяли методом Коха (Федоренко, Землянская, 2015), высевая с помощью шпателя Дригальского по 50 мкл растяжением на 4 чашки Петри. Использовали 3, 4, 5 и 6-е разведения чистой культуры *P. fuscovaginae* в стерильной дистиллированной воде. Колонии подсчитывали спустя 7 суток инкубирования чашек при 25 °С в инкубаторе.

В пробирки с экстрактом семян пшеницы добавляли бактериальную суспензию 10-кратных разведений. В качестве отрицательного контроля использовали незараженную аналитическую пробу семян. Посев проводили с помощью шпателя Дригальского на чашки Петри со средой R2A по 20 мкл экстракта с растяжением на 4 чашки.

На 10-й день после посева проводили скрининг аналитических проб и колоний методом ПЦР. Для этого выделяли ДНК сорбционным методом с помощью набора «ФитоСорб» («Синтол», Россия), используя 200 мкл каждой аналитической пробы в 3-кратной повторности, а также 200 мкл 3, 4 и 5-го разведений бактериальных суспензий в дистиллированной воде. Диагностику полученной ДНК на наличие целевой бактерии проводили с использованием коммерческого набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия). В работе

**Табл. 1. Параметры амплификации для ПЦР-РВ набором «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ»**

**Table 1. Amplification parameters for RT-PCR kit “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT”**

Цикл Cycle	Повторы Replicates	Время Time	Температура, °С Temperature, °C
1	1	05:00	95
		00:15	95
2	45	00:40	60

A bacterial suspension of 10-fold dilutions was added to test tubes with wheat seed extract. An uncontaminated analytical seed sample was used as a negative control. Sowing was carried out using a Drigalski spatula on Petri dishes with R2A medium, 20 µl of extract, stretched into 4 dishes.

On the 10<sup>th</sup> day after sowing, analytical samples and colonies were screened using PCR. To do this, DNA was isolated by the sorption method using the “FitoSorb” kit (Synthol, Russia), using 200 µl of each analytical sample in 3 replicates, as well as 200 µl of 3, 4 and 5 dilutions of bacterial suspensions in distilled water. Diagnosis of the obtained DNA for the presence of the target bacterium was carried out using the “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” commercial kit (Synthol, Russia). The detection amplifier “DTprime 5M6” (DNA-Technology, Russia) was used in the work. The total volume of the working mixture in the test tube is 25 µl. The amplification program is presented in Table 1.

**Табл. 2. Результат тестирования образцов ДНК, выделенной из зараженных аналитических проб и бактериальных суспензий**

**Table 2. The result of testing DNA samples isolated from contaminated analytical samples and bacterial suspensions**

Образец Sample					Концентрация, КОЕ/мл Concentration, CFU/ml	Среднее значение Ct по каналу FAM Average Ct value over FAM channel
Разведение Dilution	Повторность Replicate	Ct, FAM	Ct, HEX	Результат Result		
6'	1	38,6	33,1	+	1 * 10 <sup>1</sup>	39,6 ± 0,95
	2	–	33,1	–	1 * 10 <sup>1</sup>	
	3	40,5	32,9	+	1 * 10 <sup>1</sup>	
5'	1	37,0	32,5	+	1,8 * 10 <sup>2</sup>	37,2 ± 0,44
	2	38,0	33,1	+	1,8 * 10 <sup>2</sup>	
	3	36,5	32,8	+	1,8 * 10 <sup>2</sup>	
4'	1	34,2	32,7	+	2,3 * 10 <sup>3</sup>	34,3 ± 0,07
	2	34,4	32,8	+	2,3 * 10 <sup>3</sup>	
	3	34,4	32,7	+	2,3 * 10 <sup>3</sup>	
3'	1	32,9	32,5	+	1 * 10 <sup>4</sup>	33 ± 0,23
	2	33,2	32,6	+	1 * 10 <sup>4</sup>	
	3	32,9	32,6	+	1 * 10 <sup>4</sup>	
ПКО PCS		22,4	30,1	+	10 <sup>9</sup>	22,4

**Примечание:** Ct – пороговый цикл ПЦР; FAM – канал детекции спецификации ПЦР; HEX – канал детекции внутреннего положительного контроля ПЦР; «+» – положительный образец; «–» – отрицательный образец; ПКО – положительный контрольный образец.

**Note:** Ct – PCR threshold cycle; FAM – PCR specific detection channel; HEX – PCR internal positive control detection channel; “+” – positive sample; “–” – negative sample; PCS – positive control sample.

использовали детектирующий амплификатор «ДТпрайм 5М6» («ДНК-Технология», Россия). Общий объем рабочей смеси в пробирке равен 25 мкл. Программа амплификации представлена в табл. 1.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Подсчет колоний высевной бактериальной суспензии объемом 50 мкл показал, что 3-му разведению соответствует  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл, 4-му разведению –  $2,3 \cdot 10^3$  КОЕ/мл, а 5-му –  $1,8 \cdot 10^2$  КОЕ/мл. Тестирование образцов ДНК, выделенной из бактериальных суспензий, позволило обнаружить ДНК *P. fuscovaginae* в образцах ДНК с концентрацией целевой бактерии  $10^2$  КОЕ/мл в трех тестах из трех, а с концентрацией  $10^1$  КОЕ/мл – в двух тестах из трех (см. табл. 2).

Экспоненциальные кривые накопления флуоресценции были специфичными, флуоресценцию отмечали на уровне 1150 RFU (см. рис. 1).

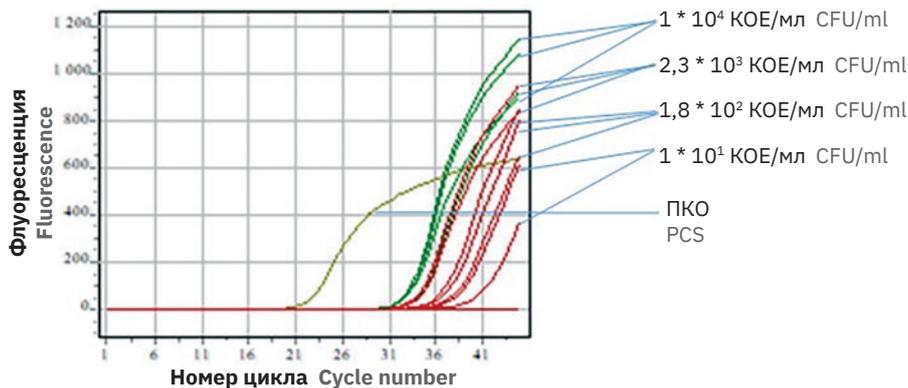
Таким образом, критерий применимости метода изоляции при тестировании набором «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) при использовании амплификатора «ДТпрайм» составил  $10^2$  КОЕ/мл.

Колонии на чашках Петри со средой R2A, спустя 7 суток инкубирования при 25 °С посева зараженной аналитической пробы, по форме круглые, неправильной формы, пуповидного профиля, с волнистым краем. Диаметр колоний – от 3–5 мм до 1 см. В начале роста они выглядели беловатыми, по мере роста становились более прозрачными, гладкими и глянцевыми (см. рис. 2).



**Рис. 2.** Колонии *Pseudomonas fuscovaginae* (3-е разведение, 3-я чашка). Истощающий посев на среде R2A после 7 суток инкубирования при 25 °С (фото Е.П. Кононовой)

**Fig. 2.** *Pseudomonas fuscovaginae* colonies (3<sup>rd</sup> dilution, 3<sup>rd</sup> cup). Exhaustive inoculation on R2A medium after 7 days of incubation at 25 °C (photo by E.P. Kononova)



**Рис. 1.** Зависимость флуоресценции канала FAM от номера цикла при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) (фото А.А. Десятерик)

**Fig. 1.** Dependence of FAM channel fluorescence on cycle number when using the kit “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Syntol, Russia) (photo by A.A. Desyaterik)

**RESULTS AND DISCUSSION**

Counting the colonies of a sown bacterial suspension with a volume of 50 µl showed that the 3<sup>rd</sup> dilution corresponds to  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml, 4<sup>th</sup> dilution –  $2,3 \cdot 10^3$  CFU/ml, and the 5<sup>th</sup> one –  $1,8 \cdot 10^2$  CFU/ml. Testing DNA samples isolated from bacterial suspensions revealed *P. fuscovaginae* DNA in DNA samples with the target bacterium concentration of  $10^2$  CFU/ml in three tests out of three, and with concentration of  $10^1$  CFU/ml – in two out of three tests (see Table 2).

The exponential fluorescence accumulation curves were specific, with fluorescence observed at 1150 RFU (see Fig. 1).

Thus, the criterion for the applicability of the isolation method when testing with a kit “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Syntol, Russia) when using the DTprime amplifier was  $10^2$  CFU/ml.

Colonies on Petri dishes with R2A medium, after 7 days of incubation at 25 °C inoculating an infected analytical sample, are round, irregular in shape, umbilical in profile, with a wavy edge. The diameter of the colonies is from 3–5 mm to 1 cm. At the beginning of growth, they looked whitish, as they grew, they became more transparent, smooth and glossy (see Fig. 2).

On Petri dishes incubated under similar conditions with colonies of the target bacterium *P. fuscovaginae* (K+), the concentration of which was  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml, colonies similar in morphology were noted (see Fig. 3).

When sowing using the Drigalsky method (Lavrenchuk, Ermoshin, 2019) *P. fuscovaginae* colonies were detected on the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> Petri dishes. On the remaining plates, these colonies were absent due to the very low concentration (see Fig. 3). Photos of the *P. fuscovaginae* colonies, taken at high magnification using an Olympus MVX10 macroscope are shown in Fig. 4.

Throughout the entire experiment, colony growth was monitored, and on the 10<sup>th</sup> day, photography, selection of colonies similar to the target bacterium in morphology, DNA extraction from these colonies, and PCR testing were performed. Colonies similar in morphology to the target bacterium were noted on the 3<sup>rd</sup> day of sowing (see Table 3).

На инкубированных в аналогичных условиях чашках Петри с колониями целевой бактерии *P. fuscovaginatae* (K+), концентрация которой составила  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл, отмечали схожие по морфологии колонии (см. рис. 3).

При проведении посева методом Дригальского (Лавренчук, Ермошин, 2019) колонии *P. fuscovaginatae* были обнаружены на 1-й и 2-й чашках Петри. На остальных чашках эти колонии отсутствовали из-за очень низкой концентрации (см. рис. 3). Фотографии колоний *P. fuscovaginatae*, сделанные при высоком увеличении с использованием микроскопа Olympus MVX10, представлены на рис. 4.

В течение всего опыта проводили мониторинг роста колоний, а на 10-е сутки – фотографирование,

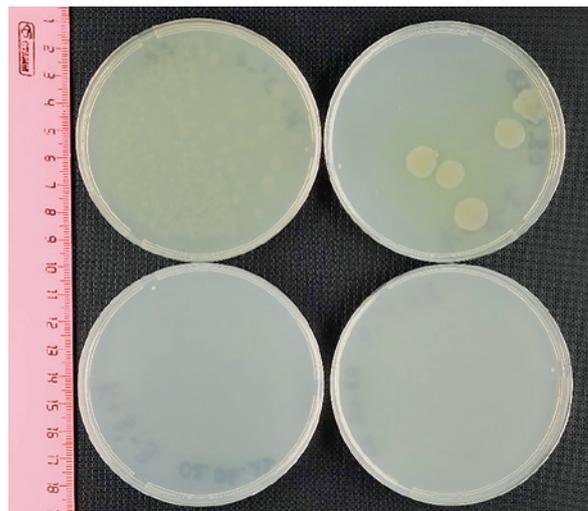
**Табл. 3. Изоляция культуры *P. fuscovaginatae* из зараженных аналитических проб на среде R2A**

**Table 3. *P. fuscovaginatae* culture isolation from contaminated analytical samples on R2A medium**

Концентрация бактерий, КОЕ/мл Bacterium concentration, CFU/ml	№ чашки № cup	1	2	3	4	7	10
$1 \cdot 10^4$ – I	1	-	-	-	-	-	-
$1 \cdot 10^4$ – I	2	-	-	+	+	+	+
$1 \cdot 10^4$ – I	3	-	-	-	-	-	-
$1 \cdot 10^4$ – I	4	-	-	-	-	-	-
$1 \cdot 10^4$ – II	1	-	-	-	-	-	-
$1 \cdot 10^4$ – II	2	-	-	+	+	+	+
$1 \cdot 10^4$ – II	3	-	-	+	+	+	+
$1 \cdot 10^4$ – II	4	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – I	1	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – I	2	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – I	3	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – I	4	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – II	1	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – II	2	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – II	3	-	-	-	-	-	-
$2,3 \cdot 10^3$ – II	4	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – I	1	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – I	2	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – I	3	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – I	4	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – II	1	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – II	2	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – II	3	-	-	-	-	-	-
$1,8 \cdot 10^2$ – II	4	-	-	-	-	-	-

**Примечание:** I – 1-я повторность; II – 2-я повторность; «-» – отсутствие или невозможность идентификации колоний; «+» – похожие по морфологии колонии просматриваются; «+» – соответствие колоний *P. fuscovaginatae* подтверждено ПЦР-тестом.

**Note:** I – first replicate; II – second replicate; “-” – absence or impossibility of identifying colonies; “+” – colonies similar in morphology are visible; “+” – correspondence of colonies *P. fuscovaginatae* confirmed by PCR test.



**Рис. 3. Колонии штамма 0335 *P. fuscovaginatae* коллекции ФГБУ «ВНИИКР» в истощающем посеве на среде R2A после 7 суток инкубирования при 25 °C (фото Е.П. Кононовой)**

**Fig. 3. Colonies of the strain 0335 *P. fuscovaginatae* of FGBU “VNIIEK” collections in exhaustive inoculation on R2A medium after 7 days of incubation at 25 °C (photo by E.P. Kononova)**



**Рис. 4. Колонии *P. fuscovaginatae* на среде R2A (фото О.Ю. Словаревой)**

**Fig. 4. *P. fuscovaginatae* colonies on R2A medium (photo by O.Yu. Slovarova)**

Individual colonies of the target bacterium are clearly visible when inoculating a contaminated analytical sample at a concentration of  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml on the first and second replicates (see Fig. 5).

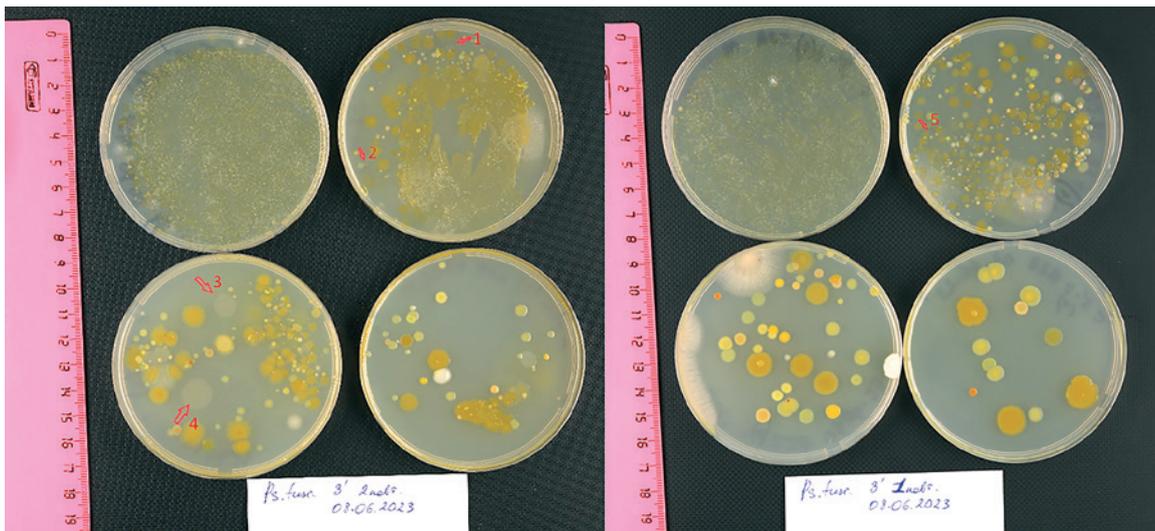
RT-PCR testing with the “*Pseudomonas fuscovaginatae*-RT” kit made it possible to confirm the identity of colonies that were morphologically similar to *P. fuscovaginatae* (see Table 4).

On Petri dishes with a lower degree of contamination with the target bacterium, *P. fuscovaginatae* colonies were not detected.

There were no morphologically similar colonies on Petri dishes inoculated with seed extract without infection.

Testing with the “*Pseudomonas fuscovaginatae*-RT” kit (Synthol, Russia) made it possible to detect *P. fuscovaginatae* DNA in samples of total DNA isolated from infected analytical samples (see Table 5).

Since there are several dozen testing laboratories in the Russian Federation and they are all equipped with different equipment, we tested two types of cyclers most often used for diagnostics – DTprime 5M6



**Рис. 5.** Колонии бактерий на среде R2A после 7 суток инкубирования при 25 °С (колонии *P. fuscovaginae* отмечены красными стрелками и обозначены цифрами) (фото Е.П. Кононовой)

**Fig. 5.** Bacterial colonies on R2A medium after 7 days of incubation at 25 °C (*P. fuscovaginae* colonies marked with red arrows and indicated by numbers) (photo by E.P. Kononova)

отбор колоний, схожих с целевой бактерией по морфологии, выделение ДНК из этих колоний и ПЦР-тестирование. Похожие по морфологии на целевую бактерию колонии отмечали на 3-и сутки посева (см. табл. 3).

Отдельные колонии целевой бактерии отчетливо различимы при посеве зараженной аналитической пробы в концентрации  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл на 1-й и 2-й повторностях (см. рис. 5).

Тестирование методом ПЦР-РВ набором «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» позволило подтвердить принадлежность колоний, морфологически схожих с *P. fuscovaginae* (см. табл. 4).

На чашках Петри с меньшей степенью зараженности целевой бактерией колонии *P. fuscovaginae* не отмечены.

На чашках Петри с посевом семенного экстракта без заражения морфологически схожие колонии отсутствовали.

Тестирование набором «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) позволило обнаружить ДНК *P. fuscovaginae* в образцах тотальной ДНК, выделенной из зараженных аналитических проб (см. табл. 5).

Так как в Российской Федерации существует несколько десятков испытательных лабораторий и все они оснащены различным оборудованием, мы испытали два типа амплификатора, наиболее часто используемые для диагностики, – «ДТпрайм 5М6» («ДНК-Технология», Россия) и CFX96 (Bio-Rad, США). Тестирование ДНК, выделенных из зараженных аналитических проб, при использовании двух разных амплификаторов помогло установить схожую зависимость между концентрацией бактерии и пороговым циклом. Результаты представлены в табл. 5.

(DNA-Technology, Russia) and CFX96 (Bio-Rad, USA). Testing DNA isolated from contaminated assay samples using two different cyclers helped establish a similar relationship between bacterial concentration and threshold cycle. The results are presented in table. 5.

The exponential fluorescence accumulation curves were specific, fluorescence was observed at a level of 1000 RFU (see Fig. 6).

The exponential fluorescence accumulation curves were specific; fluorescence was observed at a level of 1500 RFU (see Fig. 7).

**Табл. 4. Результат тестирования ДНК колоний, морфологически схожих с *P. fuscovaginae*, набором «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия)**

**Table. 4. Result of DNA testing of colonies morphologically similar to *P. fuscovaginae* using the “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” kit (Synthol, Russia)**

Образец Sample	Ct, FAM	Ct, HEX	Результат Result
1	17,8	–	+
2	28,0	30,0	+
3	16,4	–	+
4	15,1	–	+
5	19,9	–	+
ПКО PCS	31,1	32,2	+
ОКО NCS	–	31,9	–
ОКО NCS	–	32,0	–

**Примечание:** Ct – пороговый цикл ПЦР; FAM – канал детекции специфики ПЦР; HEX – канал детекции внутреннего положительного контроля ПЦР; «+» – положительный образец; «–» – отрицательный образец; ПКО – положительный контрольный образец; ОКО – отрицательный контрольный образец.

**Note:** Ct – PCR threshold cycle; FAM – PCR specificity detection channel; HEX – PCR internal positive control detection channel; “+” – positive sample; “–” – negative sample; PCS – positive control sample; NCS – negative control sample.

**Табл. 5. Результат тестирования на амплификаторах «ДТпрайм 5М6» и CFX96 образцов ДНК, выделенных из зараженных аналитических проб и бактериальных суспензий *P. fuscovaginae***

**Table 5. The result of testing DNA samples isolated from contaminated analytical samples and bacterial suspensions of *P. fuscovaginae* using DTprime 5M6 and CFX96 amplifiers**

Образец	Sample	Амплификатор «ДТпрайм 5М6» Amplifier DTprime 5M6			Амплификатор CFX96 Amplifier CFX96		
		Ct, Fam	Ct, Hex	Результат Result	Ct, Fam	Ct, Hex	Результат Result
5'-экстракт-1	5'-extract-1	36,6	33,1	+	37,15	34,38	+
5'-экстракт-2	5'- extract -2	37,1	32,8	+	38,07	34,76	+
5'-экстракт-3	5'- extract -3	36,7	32,6	+	37,49	34,97	+
4'-экстракт-1	4'- extract -1	34,2	33,0	+	34,12	34,46	+
4'-экстракт-2	4'- extract -2	34,4	32,9	+	34,12	34,67	+
4'-экстракт-3	4'- extract -3	34,2	32,5	+	34,64	34,42	+
3'-экстракт-1	3'- extract -1	32,2	32,5	+	32,11	34,48	+
3'-экстракт-2	3'- extract -2	32,0	32,5	+	31,18	34,38	+
3'-экстракт-3	3'- extract -3	31,9	32,5	+	31,18	34,01	+
Семенной экстракт-1	Seed extract -1	–	32,6	–	–	34,37	–
Семенной экстракт-2	Seed extract -2	–	33,0	–	–	34,22	–
Семенной экстракт-3	Seed extract -3	–	33,2	–	–	34,33	–
ПКО	PCS	22,4	30,1	+	14,51	–	+
ОКО	NCS	–	32,5	–	–	33,62	–
ОКО	NCS	–	32,8	–	–	32,7	–

**Примечание:** Ct – пороговый цикл ПЦР; FAM – канал детекции спецификации ПЦР; HEX – канал детекции внутреннего положительного контроля ПЦР; «+» – положительный образец; «–» – отрицательный образец; ПКО – положительный контрольный образец; ОКО – отрицательный контрольный образец.

**Note:** Ct – PCR threshold cycle; FAM – PCR specificity detection channel; HEX – PCR internal positive control detection channel; “+” – positive sample; “–” – negative sample; PCS – positive control sample; NCS – negative control sample.

Экспоненциальные кривые накопления флуоресценции были специфичные, флуоресценцию отмечали на уровне 1000 RFU (см. рис. 6).

Экспоненциальные кривые накопления флуоресценции были специфичные, флуоресценцию отмечали на уровне 1500 RFU (см. рис. 7).

Таким образом, данный метод изоляции культуры *P. fuscovaginae* может быть использован в случае заражения пробы пшеницы в концентрации  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл, что соответствует пороговому циклу флуоресценции (Ct) 32,0 при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТпрайм 5М6» («ДНК-Технология», Россия) и Ct 31,5 при использовании «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США). Несмотря на то, что критерий применимости метода при использовании теста компании «Синтол» составил  $10^2$  КОЕ/мл, метод изоляции может быть использован эффективно только при более высокой концентрации бактерии в пробе ( $10^4$  КОЕ/мл и более). Высокий критерий применимости теста, равный  $10^2$  КОЕ/мл, позволит сделать заключение о наличии ДНК бактерии в образце.

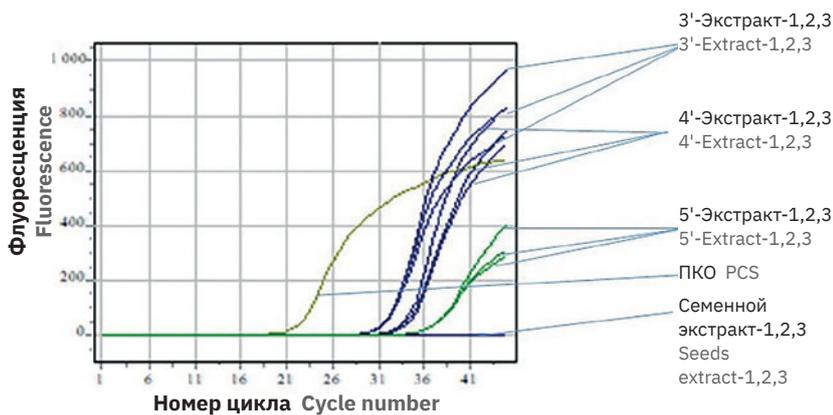
### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования были установлены критерии применимости метода изоляции культуры *Pseudomonas fuscovaginae* из семян пшеницы. Метод заключается в определенном способе

Thus, this method of isolating the *P. fuscovaginae* culture can be used in case of contamination of a wheat sample at a concentration of  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml, which corresponds to a fluorescence threshold cycle (Ct) of 32.0 using the kit “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Synthol, Russia) on the DTprime 5M6 amplifier (DNA-Technology, Russia) and Ct 31.5 when using “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Synthol, Russia) on a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA). Despite the fact that the criterion for the applicability of the method when using the Synthol test was  $10^2$  CFU/ml, the isolation method can only be used effectively when the concentration of bacteria in the sample is higher ( $10^4$  CFU/ml and more). High test applicability criterion equal to  $10^2$  CFU/ml will allow us to draw a conclusion about the presence of bacterial DNA in the sample.

### CONCLUSION

As a result of the study, criteria for the applicability of the method of isolating the *Pseudomonas fuscovaginae* culture from wheat seeds were established. The method consists in a certain way of inoculating an analytical sample, which, as a result of PCR testing, has shown the presence of the causative agent of sheath brown rot of cereal crops. Sowing should be carried



**Рис. 6.** Графики возрастания флуоресценции по каналу FAM в зависимости от концентрации целевой ДНК при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТпрайм 5М6» («ДНК-Технология», Россия) (фото А.А. Десятерик)

**Fig. 6.** Graphs of the increase in fluorescence through the FAM channel depending on the concentration of the target DNA when using the “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” kit (Syntol, Russia) on a DTprime 5M6 amplifier (DNA-Technology, Russia) (photo by A.A. Desyaterik)

посева аналитической пробы, показавшей в результате ПЦР-тестирования наличие возбудителя бактериальной гнили влагилица листа злаковых культур. Посев следует проводить истощающим способом на 4 чашки Петри со средой R2A, используя 20 мкл концентрированной вытяжки семян, в двух повторностях. Одновременно в качестве положительного контроля следует высевать 20 мкл суспензии *P. fuscovaginae* в концентрации  $10^5$ – $10^7$  КОЕ/мл. Чашки Петри после посева следует инкубировать при температуре 25 °С в течение 7 суток. Спустя 72 ч после посева следует проверить чашки с посевом аналитической пробы на наличие колоний, морфологически схожих с колониями *P. fuscovaginae*. Схожесть проверяют по появившимся на чашках с положительным контролем колониям. Колонии, схожие с *P. fuscovaginae*, следует идентифицировать молекулярно-генетическими методами.

Критерий применимости метода изоляции показал, что он может быть использован в случае заражения пробы пшеницы в концентрации  $1 \cdot 10^4$  КОЕ/мл, что соответствует пороговому циклу флуоресценции (Ct) 32,0 при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе «ДТпрайм 5М6» («ДНК-Технология», Россия) и (Ct) 31,5 при использовании «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США).

Статья подготовлена по результатам научно-исследовательской работы в рамках государственного задания по теме: «Разработка методов диагностики возбудителей бактериозов зерновых культур, имеющих фитосанитарное значение при экспорте и импорте зерновой продукции», регистрационный номер НИОКТР 123022100104-4.

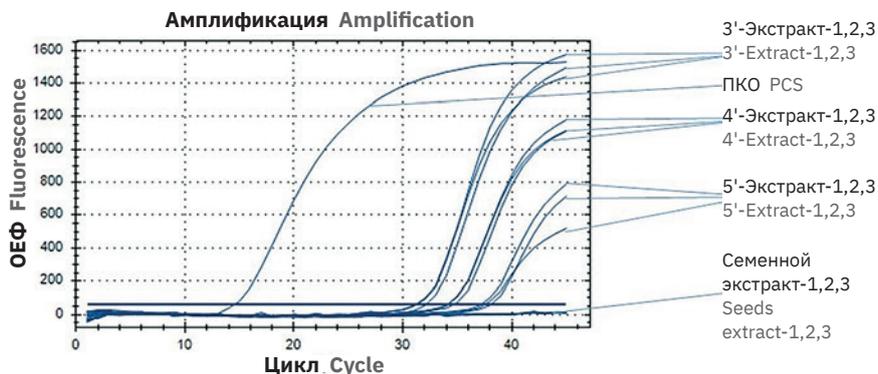
out in an exhaustive manner on 4 Petri dishes with R2A medium, using 20 µl of concentrated seed extract, in duplicate. At the same time, as a positive control, 20 µl of *P. fuscovaginae* suspension should be inoculated at a concentration of  $10^5$ – $10^7$  CFU/ml. After inoculation, Petri dishes should be incubated at 25 °C for 7 days. 72 hours after inoculation, plates with inoculation of the analytical sample should be checked for the presence of colonies morphologically similar to the *P. fuscovaginae* colonies. Similarity is checked by the colonies that appear on the positive control plates. Colonies similar to *P. fuscovaginae* should be identified by molecular genetic methods.

The criterion for the applicability of the isolation method showed that it can be used in case of contamination of a wheat sample at a concentration of  $1 \cdot 10^4$  CFU/ml, which corresponds to a fluorescence threshold cycle (Ct) of 32.0 when using the kit “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Syntol, Russia) on the DTprime 5M6 amplifier (DNA-Technology, Russia) and (Ct) 31.5 when using “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” (Syntol, Russia) on a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA).

The article was prepared based on the results of research work within the framework of a state assignment on the topic: “Development of methods for diagnosing pathogens of bacteriases of grain crops that have phytosanitary significance for the export and import of grain products”, registration number R&D 123022100104-4.

**REFERENCES**

1. Lavrenchuk L.S., Ermoshin A.A. Microbiology: practice [Mikrobiologiya: praktikum]. Ekaterinburg: Ural, 2019, 107 p. (In Russ.)



**Рис. 7.** Графики возрастания флуоресценции по каналу FAM в зависимости от концентрации целевой ДНК при использовании набора «*Pseudomonas fuscovaginae*-РВ» («Синтол», Россия) на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США) (фото А.А. Десятерик)

**Fig. 7.** Graphs of the increase in fluorescence through the FAM channel depending on the concentration of the target DNA when using the “*Pseudomonas fuscovaginae*-RT” kit (Syntol, Russia) on a CFX96 amplifier (Bio-Rad, USA) (photo by A.A. Desyaterik)

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лавренчук Л.С., Ермошин А.А. Микробиология: практикум. Екатеринбург: Урал, 2019, 107 с.
2. Мувинги М., Словарева О.Ю., Заргар М. Идентификация *Pseudomonas fuscovaginae*, *Pseudomonas syringae* и *Xanthomonas translucens* в зерне пшеницы методом ПЦР // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2022. Т. 17. № 4. С. 473–483.
3. Федоренко Т.В., Землянская Н.И. Санитарная микробиология. Часть 1. Благовещенск: Дальневосточный ГАУ, 2015, 52 с.
4. Федеральная государственная информационная система (ФГИС) «Аргус-Фито» [Электронный ресурс]. URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/foremployees/argusfito/index.html> (дата обращения: 27.07.2023).
5. Cottyn B. Bacteria associated with rice seed from Philippine farmers' fields [PhD Thesis]. Los Baños: International Rice Research Institute (IRRI), 2003.
6. González D., Corzo-Lopez M., Márquez O.P., Cruz A., Martínez B., Martínez Y. Characterization and diagnosis of *Pseudomonas fuscovaginae* Miyajima, Tanii and Akita, causal agent of the Brown Sheath Rot in rice. *Biotecnología Aplicada*. 2017. Vol. 34. P. 2101–2108.
7. Jaunet T., Nottoghem J., Rapilly F. Pathogenicity process of *Pseudomonas fuscovaginae*, the causal agent of sheath brown rot of rice. *J Phytopathol*. 199. Vol. 144 (9–10). P. 425–430.
8. Patel H.K., da Silva D.P., Devescovi G., Marathe H., Paszkiewicz K., Studholme D.J., Venturi V. Draft genome sequence of *Pseudomonas fuscovaginae*, a broad-host-range pathogen of plants // *J. Bacteriol*. No. 194. 2012. P. 2765–2766.
9. Razak A.A., Zainudin N.A.I.M., Sidiq S.N.M., Ismail N.A., Mohamad N.M.I.N., Salleh B. Sheath brown rot disease of rice caused by *Pseudomonas fuscovaginae* in the Peninsular Malaysia. *J. Plant Protect Res*. 2009. Vol. 49 (3). P. 244–249.
10. Rott P., Honegger J., Nottoghem J. Isolation of *Pseudomonas fuscovaginae* with a semiselective medium (KBS). *Int Rice Res Newslett*. 1989. Vol. 14 (1). P. 29.
11. Tambong J. Bacterial Pathogens of Wheat: Symptoms, Distribution, Identification, and Taxonomy. In (Ed.), *Wheat* [Working Title]. 2022. 25 p.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Десятерик Анастасия Андреевна**, младший научный сотрудник отдела организаций межлабораторных сравнительных испытаний, ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; магистрант Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; *e-mail: anastasiya.10.00@mail.ru*.

**Словарева Ольга Юрьевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела организации межлабораторных сравнительных испытаний, ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: slovareva.olga@gmail.com*.

**Кононова Елена Петровна**, агроном лаборатории бактериологии и анализа ГМО ИЛЦ ФГБУ «ВНИИКР», р. п. Быково, г. о. Раменский, Московская обл., Россия; *e-mail: catamont@yandex.ru*.

2. Muvingi M., Slovaeva O.Yu., Zargar M. Identification of *Pseudomonas fuscovaginae*, *Pseudomonas syringae* and *Xanthomonas translucens* in wheat grain by PCR method [Identifikatsiya *Pseudomonas fuscovaginae*, *Pseudomonas syringae* i *Xanthomonas translucens* v zerne pshenitsy metodom PTSR] // Bulletin of the Russian Peoples' Friendship University. Series: Agronomy and animal husbandry. 2022; 17; 4: 473–483. (In Russ.)

3. Fedorenko T.V., Zemlyanskaya N.I. Sanitary microbiology. Part 1. [Sanitarnaya mikrobiologiya. Chast' 1] Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University, 2015, 52 p. (In Russ.)

4. Federal State Information System (FSIS) "Argus-Fito" [Electronic resource]. URL: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/foremployees/argusfito/index.html> (last accessed: 27.07.2023).

5. Cottyn B. Bacteria associated with rice seed from Philippine farmers' fields [PhD Thesis]. Los Baños: International Rice Research Institute (IRRI), 2003.

6. González D., Corzo-Lopez M., Márquez O.P., Cruz A., Martínez B., Martínez Y. Characterization and diagnosis of *Pseudomonas fuscovaginae* Miyajima, Tanii and Akita, causal agent of the Brown Sheath Rot in rice. *Biotecnología Aplicada*. 2017. Vol. 34. P. 2101–2108.

7. Jaunet T., Nottoghem J., Rapilly F. Pathogenicity process of *Pseudomonas fuscovaginae*, the causal agent of sheath brown rot of rice. *J Phytopathol*. 199. Vol. 144 (9–10). P. 425–430.

8. Patel H.K., da Silva D.P., Devescovi G., Marathe H., Paszkiewicz K., Studholme D.J., Venturi V. Draft genome sequence of *Pseudomonas fuscovaginae*, a broad-host-range pathogen of plants // *J. Bacteriol*. No. 194. 2012. P. 2765–2766.

9. Razak A.A., Zainudin N.A.I.M., Sidiq S.N.M., Ismail N.A., Mohamad N.M.I.N., Salleh B. Sheath brown rot disease of rice caused by *Pseudomonas fuscovaginae* in the Peninsular Malaysia. *J. Plant Protect Res*. 2009. Vol. 49 (3). P. 244–249.

10. Rott P., Honegger J., Nottoghem J. Isolation of *Pseudomonas fuscovaginae* with a semiselective medium (KBS). *Int Rice Res Newslett*. 1989. Vol. 14 (1). P. 29.

11. Tambong J. Bacterial Pathogens of Wheat: Symptoms, Distribution, Identification, and Taxonomy. In (Ed.), *Wheat* [Working Title]. 2022. 25 p.

### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Anastasiya Desyaterik**, Junior Researcher, Interlaboratory Comparisons Organization Department, FGBU "VNI IKR", Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; Master's student Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia; *e-mail: anastasiya.10.00@mail.ru*.

**Olga Slovaeva**, PhD in Biology, Senior Researcher, Interlaboratory Comparisons Organization Department, FGBU "VNI IKR", Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: slovareva.olga@gmail.com*.

**Elena Kononova**, Agronomist, Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, Laboratory Testing Center, FGBU "VNI IKR", Bykovo, Urban district Ramensky, Moscow Oblast, Russia; *e-mail: catamont@yandex.ru*.

# 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 достойное 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. о. Раменский, 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
- 17 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. о. Раменский, р. п. Быково,  
ул. Пограничная, д. 32

Тел./факс:  
8 (499) 707-22-27

e-mail: [office@vniikr.ru](mailto:office@vniikr.ru)  
<http://www.vniikr.ru>