



Микроскопия
*Pseudococcus
comstocki*
(Kuwana)

17

Возбудитель
бактериальной
пятнистости
цветной капусты

25

Идентификация
*Drosophila
suzukii* (Mats.)

33

Фитосанитарная
ревизия
повилик

52

ФИТОСАНИТАРИЯ. КАРАНТИН РАСТЕНИЙ

PLANT HEALTH AND QUARANTINE

Свидетельство
о регистрации СМИ ПИ
№ ФС 77-76606

Русско-английский научный журнал

Сентябрь № 3 (3) 2020

ТЕМА НОМЕРА:
Международный год охраны здоровья
растений – 2020 и его вклад
в продовольственную безопасность 2

**Вирус коричневой
морщинистости плодов
томата 7**

**Анализ
экологического риска
Torymus sinensis 41**

Фото: RomoloTavani / iStock

Редакционная коллегия Editorial board

главный редактор:

А.М. ШЕГЛОВ, директор ФГБУ «ВНИИКР»

шеф-редактор:

С.Г. ЗИНОВЬЕВА, начальник отдела по связям с общественностью и СМИ ФГБУ «ВНИИКР»

редакционная коллегия журнала

Ю.А. ШВАБАУСКЕНЕ – заместитель Руководителя Россельхознадзора
Н.Н. СОЛОВЬЕВА – начальник Управления фитосанитарного надзора и семенного контроля Россельхознадзора, кандидат биологических наук

А.Д. ОРЛИНСКИЙ – научный советник ЕОКЗР, доктор биологических наук

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

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

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

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

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

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

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

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

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

М.М. АБАСОВ – и. о. заместителя директора ФГБУ «ВНИИКР», доктор биологических наук

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

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

Ю.А. ШНЕЙДЕР – и. о. заместителя директора ФГБУ «ВНИИКР», кандидат биологических наук

редакция

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

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

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

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

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

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

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

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

А.Г. ФЕДОТОВА – начальник отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия ФГБУ «ВНИИКР»

И.И. БЫКОВ – переводчик отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия ФГБУ «ВНИИКР»

А.А. БЕЛОМЕСТНОВА – переводчик отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия ФГБУ «ВНИИКР»

О.Л. КРАСИЛОВА – переводчик отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия ФГБУ «ВНИИКР»

В.В. ЧЕРЕПАНОВА – редактор-корректор ФГБУ «ВНИИКР»

chief editor:

А.М. SHCHEGLOV, DIRECTOR OF FGBU “VNIIKR”

managing editor:

S.G. ZINOVEVA, Head of the Public Relations and Mass Media Department of FGBU “VNIIKR”

editorial board

YU.A. SHVABAUSKENE – Deputy Head of Rosselkhoznadzor

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

M.M. ABASOV – Acting Deputy Director of FGBU “VNIIKR”, Doctor of Advanced Studies in Biological Sciences

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

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

Y.A. SCHNEYDER – Acting Deputy Director of FGBU “VNIIKR”, PhD in Biology

editorship

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

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

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

E.V. KARIMOVA – Senior Researcher of the Scientific and Methodological Department of Virology and Biology of the FGBU “VNIIKR”, PhD in Biology

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

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

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

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

A.G. FEDOTOVA – Head of the Pest Risk and International Cooperation Department of FGBU “VNIIKR”

I.I. BYKOV – Translator of the Pest Risk and International Cooperation Department of FGBU “VNIIKR”

A.A. BELOMESTNOVA – Translator of the Pest Risk and International Cooperation Department of FGBU “VNIIKR”

O.L. KRASILOVA – Translator of the Pest Risk and International Cooperation Department of FGBU “VNIIKR”

V.V. CHEREPANOVA – Copy Editor of FGBU “VNIIKR”

Содержание Content

фАО информирует

Международный год охраны здоровья растений – 2020 и его вклад в продовольственную безопасность
Р. МАЦУКЕЛЛИ, А.С. ШАМИЛОВ

научные исследования

Вирус коричневой морщинистости плодов томата – потенциальная угроза для производства томатов и перца
Е.В. КАРИМОВА, Ю.А. ШНЕЙДЕР

Микроскопическое исследование диагностических структур самки *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) – карантинного объекта единого перечня ЕАЭС
Н.А. ГУРА, А.В. ШИПУЛИН

Характеристика и распространение возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.
С.И. ПРИХОДЬКО, А.Б. ЯРЕМКО, К.П. КОРНЕВ

Применение метода полимеразной цепной реакции для идентификации преимагинальных стадий *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)
Е.В. КОЛЕСНИКОВА, Г.Н. БОНДАРЕНКО

аналитика

Анализ экологического риска *Torymus sinensis* – специализированного паразитоида восточной каштановой орехотворки *Dryocosmus kuriphilus*
Ю.И. ГНИНЕНКО

Повилики естественных и антропогенно измененных сообществ Пензенской области и возможные биологические агенты их контроля
Е.А. СУХОЛОЗОВА, Е.А. СУХОЛОЗОВ, А.В. САФОНОВ

FAO informs

International Year of Plant Health – 2020 and its contribution to food security
R. MAZZUCCHELLI, A.S. SHAMILOV

scientific research

Tomato brown rugose fruit virus is a potential threat for the tomato and pepper industry
E.V. KARIMOVA, Y.A. SHNEYDER

Microscopic study of diagnostic structures of a female of *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) – quarantine pest of the Unified EAEU List
N.A. GURA, A.V. SHIPULIN

Characterization and spread of bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.
S.I. PRIKHODKO, A.B. IAREMKO, K.P. KORNEV

Application of polymerase chain reaction method for identification of preimaginal stages of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)
E.V. KOLESNIKOVA, G.N. BONDARENKO

analytics

Environmental risk assessment of *Torymus sinensis*, a specialized parasitoid of the oriental chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*
YU.I. GNINENKO

Dodders of Natural and Anthropogenically Modified Coenoses in Penza Region and Their Possible Biological Control Agents
E.A. SUKHOLOZOVA, E.A. SUKHOLOZOV, A.V. SAPHONOV

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
Дизайн и верстка: Мария Бондарь
Учредитель: ФГБУ «ВНИИКР», 140150, Московская область, Раменский район, г. Раменское, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
Издатель: ООО «Вейнард»
Телефон редакции: 8 (495) 925-06-34
Электронная почта: veinardltd@gmail.com
Индексы издания для подписки в каталогах:
АО «Агентство «Роспечать» – 81075
ООО «Агентство Книга-Сервис» – 33095
Отпечатано в типографии
ООО «Полиграфический комплекс»
123298, г. Москва, ул. 3-я Хорошевская, дом 18, корпус 1
Тираж 3000 экз.
Подписано в печать: 7 сентября 2020 г.
Дата выхода в свет: 12 сентября 2020 г.

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.
Design & Composition: Mariya Bondar
Establisher: FGBU VNIIKR, 140150, Moskovskaya oblast, Ramensky district, Ramenskoye, r. p. Bykovo, Pogranichnaya ulitsa, 32
Publisher: ООО “Veynard”
Editorial Board Office:
Tel: +7 (495) 925-06-34

E-mail: veinardltd@gmail.com
Subscription indexes:
АО Agentstvo “Rospechat” – 81075
ООО Agentstvo “Kniga-Servis”– 33095
Printing house:
ООО “Poligrafichesky kompleks”, 123298, ul. 3-ya Khoroshevskaya, 18, build. 1
Circulation: 3000 copies
Approved for print: 07/09/2020
Issue date: 12/09/2020

Международный год охраны здоровья растений – 2020 и его вклад в продовольственную безопасность

Р. МАЦУКЕЛЛИ, Секретариат Международной конвенции по карантину и защите растений, e-mail: riccardo.mazzucchelli@fao.org

А.С. ШАМИЛОВ, Секретариат Международной конвенции по карантину и защите растений, e-mail: artur.shamilov@fao.org

«Право на достаточное питание реализуется в том случае, когда каждый человек – мужчина, женщина и ребенок – отдельно или совместно с другими в любое время имеет физические и экономические возможности для доступа к достаточному питанию или располагает средствами его получения».

Замечание общего порядка № 12
Комитет по экономическим, социальным и культурным правам (КЭСКП), 1999

ПОВЕСТКА ДНЯ В ОБЛАСТИ УСТОЙЧИВОГО РАЗВИТИЯ НА ПЕРИОД ДО 2030 ГОДА, ГЛОБАЛЬНАЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И ЗДОРОВЬЕ РАСТЕНИЙ

Продовольствие и сельское хозяйство имеют ключевое значение для достижения Повестки дня до 2030 года в области устойчивого развития и ее 17 целей в области устойчивого развития (ЦУР), которые являются основой продовольственной безопасности.

Продовольственная безопасность способствует преобразованиям, предусмотренным Повесткой дня до 2030 года в области устойчивого развития, путем обеспечения синергических связей в каждом контексте существующих политических условий. За счет выстраивания синергических связей повышается согласованность действий в соответствующих секторах. Аналогичным образом стратегии и меры, направленные на укрепление здоровья растений, также имеют основополагающее значение для достижения ЦУР, в частности тех, которые направлены на ликвидацию голода и недоедания, сокращение масштабов нищеты и устранение угроз для окружающей среды, таких как, например, вспышки вредных организмов.

International Year of Plant Health – 2020 and its contribution to food security

R. MAZZUCHELLI, International Plant Protection Convention Secretariat, e-mail: riccardo.mazzucchelli@fao.org

A.S. SHAMILOV, International Plant Protection Convention Secretariat, e-mail: artur.shamilov@fao.org

“The right to adequate food is realized when every man, woman and child, alone or in community with others, has the physical and economic access at all times to adequate food or means for its procurement.”

General Comment 12
Committee on Economic, Social and Cultural Rights (CESCR), 1999

THE AGENDA 2030 FOR SUSTAINABLE DEVELOPMENT, GLOBAL FOOD SECURITY AND PLANT HEALTH

Food and agriculture are key in achieving the Agenda 2030 for Sustainable Development and its 17 Sustainable Development Goals (SDGs), which are basis for food security.

Food security contributes to the transformational change set forth by the Agenda 2030 for Sustainable Development by creating synergies within each context of the existing policy environments. Thus creating synergies is enhancing coherence across relevant sectors. Similarly, policies and actions promoting plant health are also fundamental in achieving the SDGs, in particular those aimed to eliminating hunger and malnutrition, reducing poverty and threats to the environment such as the outbreak of pests, amongst others.

The implementation of the International Standards on Phytosanitary Measures (ISPMs)¹ contributes to achieving the Agenda 2030 by providing a harmonised, evidence-based voluntary framework for

¹ All adopted ISPMs are available at this location: <https://www.ippc.int/en/core-activities/standards-setting/ispms/>.

Осуществление Международных стандартов по фитосанитарным мерам (МСФМ)¹ способствует достижению Повестки дня до 2030 года путем обеспечения гармонизированного, основанного на фактических данных добровольного механизма для согласованного и последовательного осуществления стратегии, нацеленной на укрепление фитосанитарного потенциала на национальном уровне. Комплекс всех этих мероприятий направлен на поддержку продовольственной безопасности.

ВКЛАД МЕЖДУНАРОДНОГО ГОДА ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ РАСТЕНИЙ (МГОЗР) – 2020 В ПРОДОВОЛЬСТВЕННУЮ БЕЗОПАСНОСТЬ

Существует четкая взаимосвязь между здоровьем растений и укреплением продовольственной безопасности, что также способствует искоренению бедности в мире. Укрепление и сохранение здоровья растений во всем мире имеет важнейшее значение для достижения глобальной продовольственной безопасности. МГОЗР представляет собой уникальную возможность для достижения этой цели, особенно принимая во внимание следующие факты:

– Растения составляют до 80% потребляемых нами продуктов питания. Соответственно, они имеют решающее значение для обеспечения продовольственной безопасности или постоянного доступа к достаточному количеству недорогого, безопасного и питательного продовольствия, позволяющего всем нам вести активный и здоровый образ жизни.

– До 40% всех продовольственных культур подвержены воздействию вредных организмов растений.

– Изменение климата грозит не только сокращением количества сельскохозяйственных культур, снижением урожайности, но и уменьшением питательной ценности. Повышение температуры также означает, что больше вредных организмов растений появляется раньше, и в местах, где их раньше не было.

Решение проблемы здоровья растений посредством целенаправленной, индивидуализированной и многосторонней политики способствует реализации права на достаточное питание, а эта реализация достигается путем обеспечения и сохранения продовольственной безопасности и питания. Здоровье растений является предпосылкой наличия продовольствия и кормов для мелких фермеров, а также обеспечивает, например, излишки продукции для продажи и улучшает экономическое положение мелких фермеров.

СТРАТЕГИЯ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Международный год охраны здоровья растений поощряет деятельность и инициативы, способствующие среди прочего искоренению голода (ЦУР 2), и Секретариат Международной конвенции по карантину и защите растений (МККЗР) выделяет ресурсы на развитие связей между здоровьем растений и продовольственной безопасностью, приняв здоровье растений и продовольственную

¹ Все принятые МСФМ доступны по следующему адресу: <https://www.ippc.int/ru/core-activities/standards-setting/ispms/>.

coherent and consistent implementation of policies strengthening phytosanitary capacities at the national level. All these activities in complex are aimed at supporting food security.

INTERNATIONAL YEAR OF PLANT HEALTH (IYPH) – 2020 CONTRIBUTION TO FOOD SECURITY

There are clear links between healthy plants and enhancing food security, which also supports eradicating poverty in the world. Promoting and preserving plant health globally is essential to achieving the food security, globally. The IYPH is a unique opportunity to that end, especially considering the following facts:

– Plants make up 80% of the food we eat. As such, they are critical for safeguarding food security, or the ongoing access to sufficient, affordable, safe and nutritious food for us all to live active and healthy lives;

– Plant pests are responsible for losses of up to 40% percent of food crops globally;

– Climate change threatens to reduce not only the quantity of crops, lowering yields, but also reducing the nutritious value. Rising temperatures also mean that more plant pests are appearing earlier and in places where they were never seen before.

Addressing plant health through targeting, tailoring and multilateral policymaking, contributes to the realization of the right to adequate food by achieving and preserving food security and nutrition. Plant health is a prerequisite for food and feed availability for smallholder farmers and also provides, for example, smallholders with surplus produce to sell and increases their economic standing.

IMPLEMENTATION STRATEGY

The International Year of Plant Health promotes activities and initiatives contributing to the Eradication of Hunger (SDGs 2) – amongst others – and the IPPC Secretariat has dedicated resources to linkages between plant health and food security, establishing plant health and food security as the annual theme of 2016². The IPPC provides countries an international framework to protect national food security, in which the global movement of pests of plants can be managed on a national and scientific basis within their acceptable level of phytosanitary risk. A major objective has been to ensure national food security by minimizing the impact of pests on plants. The implementation of the IPPC and its international standards (ISPMs – recognized by the World Trade Organization), which receive the necessary support and technical assistance from the IPPC Community, is a key feature to succeed at country level.

FAO plays an increasingly decisive role in the advancement of the access to adequate food at global, regional and national levels. The Organization proactively contributes to the increasing number of countries that have included food security in their national constitutions, laws, strategies, policies and programmes. Policies should take particular attention

² Find more information at <https://www.ippc.int/en/themes/food-security/>.



Рис. 1. Гусеница кукурузной лиственной совки *Spodoptera frugiperda* на растении кукурузы (фото Ю.А. Ловцовой, Республика Перу, 2016 г.)
 Fig. 1. Larva of southern grass worm *Spodoptera frugiperda* on maize (photo by Iu.A. Lovtsova, the Republic of Peru, 2016)



Рис. 2. Растение кукурузы, поврежденное гусеницами *Spodoptera frugiperda* (фото Ю.А. Ловцовой, Республика Перу, 2016 г.)
 Fig. 2. Maize damaged by larvae of *Spodoptera frugiperda* (photo by Iu.A. Lovtsova, the Republic of Peru, 2016)

безопасность в качестве годовой темы 2016 года². МККЗР обеспечивает странам международные основы для защиты национальной продовольственной безопасности. В рамках данных основ глобальное перемещение вредных организмов растений может регулироваться на научной базе в пределах их приемлемого уровня фитосанитарного риска. Одной из основных целей является обеспечение национальной продовольственной безопасности путем минимизации воздействия вредных организмов на растения. Осуществление МККЗР и ее международных стандартов (МСФМ – признанных Всемирной торговой организацией), которые получают необходимую поддержку и техническую помощь со стороны Сообщества МККЗР, является ключевой характеристикой для достижения успеха на уровне стран.

ФАО играет все более решающую роль в расширении доступа к достаточному питанию на глобальном, региональном и национальном уровнях. Организация активно содействует увеличению числа стран, включающих вопросы продовольственной безопасности в свои национальные законы, стратегии, меры и программы. В рамках мер особое внимание должно уделяться выявлению уязвимых групп и мелких домашних хозяйств, а также выявлению причин отсутствия у них продовольственной безопасности. Необходимо, в рамках определенной культуры, принимать корректирующие меры, гарантирующие доступ к продовольствию, свободному от небезопасных веществ, и средствам его закупки.

МЕЖДУНАРОДНЫЕ
ПРОДОВОЛЬСТВЕННЫЕ
СИСТЕМЫ

Международные продовольственные системы способствуют повышению наличия, доступности, ценовой приемлемости и качества продовольствия и, следовательно, способствуют обеспечению продовольственной безопасности. Для обеспечения здоровья растений необходимо осуществлять постоянный и научно обоснованный фитосанитарный надзор и обследования для определения статуса вредного организма в стране. Это поможет определить наличие или отсутствие вредных организмов в стране, что позволит правительствам быстрее реагировать. В свою очередь, это облегчит

² Более подробную информацию вы найдете на <https://www.ippc.int/ru/themes/food-security/>.



Рис. 3. Бактериальный ожог плодовых культур *Erwinia amylovora* на яблоне (фото Е.Ю. Шнейдер, Республика Молдова, 14 июня 2007 г.)
 Fig. 3. Fireblight *Erwinia amylovora* on apple (photo by E.Y. Shneyder, the Republic of Moldova, June 14, 2007)



Рис. 4. Бактериальный ожог плодовых культур *Erwinia amylovora* на боярышнике (фото Е.Ю. Шнейдер, Калининградская область, 5 июля 2007 г.)
 Fig. 4. Fireblight *Erwinia amylovora* on hawthorn (photo by E.Y. Shneyder, the Kaliningrad Region, July 5, 2007)

to the identification of vulnerable groups and households, along with the reasons for their food insecurity. Corrective measures should be implemented to guarantee their access to adequate food, free from unsafe

торговлю и доступ к рынкам, обеспечивая доверие между торговыми партнерами. Открытые и прозрачные рынки воплощаются в экономические возможности и являются частью долгосрочных стратегий по искоренению бедности и повышению продовольственной безопасности.

Обеспечение безопасных условий для международной торговли продовольственными товарами и продуктами растительного происхождения имеет важнейшее значение для сохранения мировых ресурсов, в том числе в интересах будущих поколений. Программные обзоры могут содержать актуальные научные и фактологические данные для повышения устойчивости международных продовольственных систем и принимаемых мер.

НАПРАВЛЕНИЯ МЕЖДУНАРОДНОГО СОТРУДНИЧЕСТВА В ОБЛАСТИ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОЙ БЕЗОПАСНОСТИ И ЗДОРОВЬЯ РАСТЕНИЙ

- Сотрудничество с организациями потребителей и научными кругами может помочь правительствам усилить поддержку некоторых преобразований и инвестиций.
- Поощрение стратегий и мер, направленных на приведение их в соответствие с Целями устойчивого развития, связанными со здоровьем растений. Продовольственная безопасность лежит в основе межсекторальных стратегий и скоординированных действий различных субъектов на всех уровнях.
- Продвижение кампаний по информированию общественности о том, как защита здоровья растений может помочь искоренить голод и обеспечить продовольственную безопасность.
- Более активное инвестирование в исследования, связанные со здоровьем растений, в инновационные методы и технологии, а также создание для этого стимулов для частного сектора и фермеров.
- Обеспечение соблюдения МСФМ и укрепление потенциала в области защиты растений, в том числе путем проведения оценки фитосанитарного потенциала (ОФП) в сотрудничестве с Секретариатом МККЗР. Это должен быть всеобъемлющий процесс, объединяющий все соответствующие национальные заинтересованные стороны – импортеров, экспортеров, производителей, секторы окружающей среды и торговли и научное сообщество – для оказания помощи странам в выявлении сильных и слабых сторон их фитосанитарных систем.

substances and acceptable within a given culture; or the means of its procurement.

INTERNATIONAL FOOD SYSTEMS

International food systems contribute to improving food availability, accessibility, affordability and adequacy, and therefore are conducive to food security. To ensure plant health it is necessary to carry out constant and scientifically accurate surveillance programmes to determine the pest status of a country. This will allow knowing if the pests are present or absent in a country, governments are enabled to rapidly respond to new detections. This in turn will facilitates trade and market access as it provides trust between trading partners. Open and transparent markets translate into economic opportunities and are part of long-term strategies to eradicate poverty and improve food security.

Ensuring safe environments for the international trade of food and plant products is essential to safeguard the world’s resource, also in favour of future generations. Programmed reviews can provide relevant science and evidence-based updates to improve the sustainability of international food systems and adopted measures.

AREAS OF INTERNATIONAL COOPERATION IN RELATION TO FOOD SECURITY AND PLANT HEALTH

- Working with consumer organizations and academia may help governments to increase the support for some policy changes and investments;
- Promoting policies and actions aligning it with Sustainable Development Goals related to plant health. The food security underpins cross-sectoral policies and coordinated action among different actors at all levels;
- Promoting public awareness campaigns on how protecting plant health can help end hunger and realize the food security;
- Investing more in research related to plant health and in innovative practices and technologies, as well as providing incentives for the private sector and farmers to do so;
- Enforcing ISPMs and strengthen plant protection capacity, including by conducting a phytosanitary capacity evaluation (PCE) in collaboration with the IPPC Secretariat. It should be an inclusive process, which brings together all relevant national stakeholders – importers, exporters, producers, the environment and trade sectors and academia – to help countries identify strengths and weaknesses in their phytosanitary systems.

УДК 632.3.01/.08; 632.92

Вирус коричневой морщинистости плодов томата – потенциальная угроза для производства томатов и перца

Е.В. КАРИМОВА, к. б. н., старший научный сотрудник НМОВБ ФГБУ «ВНИИКР»,
e-mail: elenavkar@mail.ru

Ю.А. ШНЕЙДЕР, к. б. н., и. о. заместителя директора, начальник научно-методического и экспериментального центра ФГБУ «ВНИИКР»,
e-mail: yury.shneyder@mail.ru

Аннотация. Вирус коричневой морщинистости плодов томата *Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)* впервые был описан в 2016 г. на Ближнем Востоке. Вирус имеет высокие патогенность и скорость распространения, за последние несколько лет вирус был выявлен в целом ряде стран практически на всех континентах, где нанес очень серьезный ущерб производству томатов и перца. *ToBRFV* сохраняет жизнеспособность в течение долгого времени в семенах, растениях и их частях, на инертных поверхностях: картоне, поддонах для овощей, упаковочном материале, инструментах, одежде и прочем. Быстрое распространение *ToBRFV* обусловило необходимость включения его в Сигнальный перечень вредных организмов Европейской и Средиземноморской организации по карантину и защите растений (ЕОКЗР) и создания международных исследовательских групп по разработке методов его выявления и идентификации. В конце 2019 г. комиссия Европейского союза установила экстренные меры для предотвращения проникновения и распространения на территории внутри стран ЕС вируса коричневой морщинистости плодов томата.

Ключевые слова. Карантин растений, томат, перец, закрытый грунт, вредный организм.

В настоящее время в Российской Федерации овощеводство закрытого грунта – одно из ведущих направлений сельского хозяйства. По информации организации «Плодоовощной союз», объемы производства овощей в защищенном грунте в 2019 г. составили 1332 тыс. тонн, из них 543 тыс. тонн – томаты.

Томат является важнейшей овощной культурой в мире (16%), с ежегодным увеличением объемов его производства. По данным ФАО, мировое

UDC 632.3.01/.08; 632.92

Tomato brown rugose fruit virus is a potential threat for the tomato and pepper industry

E.V. KARIMOVA, PhD in Biology, Senior Researcher of the Scientific and Methodological Department of Virology and Biology of the FGBU “VNIIKR”,
e-mail: elenavkar@mail.ru

Y.A. SHNEYDER, PhD in Biology, Deputy Director, Chief of the Scientific-Methodological and Testing Department of the FGBU “VNIIKR”,
e-mail: yury.shneyder@mail.ru

Abstract. *Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV)* was first observed in 2016 in the Middle East. It is a highly pathogenic and transmittable virus. *ToBRFV* has been found in a number of countries for the last several years on almost all the continents causing major concerns for growers of tomato and pepper. *ToBRFV* can remain viable for long periods in seeds, plants and their parts, on a range of surfaces: cardboard, plant trays, packaging, tools, clothing etc. Rapid spread of *ToBRFV* resulted in adding it to the Alert List of the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) and establishing various international research groups in order to develop detection and identification methods. Since the end of 2019, EU Commission has established emergency measures to prevent the introduction into, and the spread within the EU territory of *Tomato brown rugose fruit virus*.

Keywords. Plant quarantine, tomato, pepper, protected production, pest.

Nowadays, protected cultivation of horticultural crops is one of the leading agricultural trends in the Russian Federation. According to the organization The National Union of Fruit and Vegetable Producers (Fruit and Vegetable Union), in 2019, 1332 thousand tonnes

производство томата составляет 130 млн тонн, из которых 68% предназначено для свежего потребления, 32% идут на переработку [1, 10].

Производство томата в Российской Федерации растет с каждым годом. Согласно информации организации «Плодоовощной союз», для обеспечения импортозамещения Правительством Российской Федерации в подотрасль было вложено более 250 млрд рублей.

Проникновение вируса коричневой морщинистости плодов томата (Tomato brown rugose fruit virus) на территорию Российской Федерации приведет к значительным экономическим потерям в отрасли овощеводства.

Вирус коричневой морщинистости плодов томата (ToBRFV) относится к роду *Tobamovirus*, ряд представителей которого широко распространен на территории Российской Федерации и не контролируется карантинными перечнями РФ и ЕАЭС.

На настоящий момент естественными подтвержденными экономически значимыми растениями – хозяевами данного вируса являются томат (*Solanum lycopersicum*) и перец (*Capsicum annuum*). Исследователи полагают, что все виды *Capsicum* spp. (включая *C. annuum*, *C. chinense* и *C. frutescens*) – потенциальные хозяева вируса, поскольку данные 3 вида растений тесно связаны, обычно их гибриды совместно разводят, культивируют и распространяют по всему миру; кроме того, семена *Capsicum* spp. схожи по внешнему виду и трудноразличимы [12, 16].

ToBRFV был также обнаружен у некоторых видов сорных растений (*Chenopodium murale* и *Solanum nigrum*) в Израиле. Исследования показали, что ряд растений может быть искусственно заражен вирусом.

В некоторых литературных источниках в качестве растения – хозяина ToBRFV указывают баклажан *Solanum melongena*. Вирус дважды был выявлен в Мексике на его импортируемых семенах с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Эксперты полагают, что данный положительный результат мог быть связан с загрязнением при контакте, а не с системной инфекцией, передаваемой семенами. В качестве растения – хозяина вируса коричневой морщинистости плодов томата в Мексике упоминается цветная капуста *Brassica oleracea* var. *botrytis*. В процессе вегетации на растениях цветной капусты, культивируемых в открытом грунте, были отмечены необычные симптомы, после чего данные растения были протестированы на ToBRFV с помощью ПЦР, и результат оказался положительным. Однако специалисты-вирусологи считают, что положительный результат, полученный при анализе, может быть связан с загрязнением через сотрудников агропредприятия или контаминацией в лаборатории в ходе тестирования. В настоящий момент нет достаточных доказательств для того, чтобы рассматривать баклажан и цветную капусту в качестве растений – хозяев



Рис. 1. Узколистность и пузырчатость листьев томата (Израиль, 2019) (фото: Camille Picard). Источник: EPPO global database / Narrowing and blistering of tomato leaf (Israel, 2019)

of vegetables were grown in protected productions, where 543 thousand tonnes accounted for tomatoes.

Tomato is the most important vegetable crop grown worldwide (16%) with a global production increasing annually. According to FAO, tomato accounts for 130 million tonnes of world production, 68% is used for table consumption in fresh form, 32% is used for processing [1, 10].

Tomato production in the Russian Federation increases every year. According to the organization The National Union of Fruit and Vegetable Producers (Fruit and Vegetable Union), while facilitating import substitution, the Government of the Russian Federation invested more than 250 billion rubles in tomato production in Russia.

The introduction of Tomato brown rugose fruit virus into the Russian Federation will result in significant economic losses in vegetable production.

Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) is a member of the genus *Tobamovirus*. A number of tobamoviruses is widespread in the Russian Federation and is not included in the quarantine lists of RF and the EAEU.

Currently, tomato (*Solanum lycopersicum*) and pepper (*Capsicum annuum*) are the only confirmed natural cultivated hosts of ToBRFV. Researches assume that all species of *Capsicum* spp. (including *C. annuum*, *C. chinense* and *C. frutescens*) are potential hosts, because these 3 plants are closely related – usually their hybrids are jointly bred, cultivated and distributed around the world; in addition, seeds of *Capsicum* spp. are similar-looking seeds and hard to differentiate [12, 16].

ToBRFV was also identified in Israel on a few weed species (*Chenopodium murale* and *Solanum nigrum*). Research showed that a number of plants can be artificially inoculated with the virus.

In some literature, aubergine *Solanum melongena* is reported as a host plant of ToBRFV. The virus was detected twice on imported seeds in Mexico using the

ToBRFV. В исследованиях по передаче вируса коричневой морщинистости плодов томата растениям картофеля, проводимых группой специалистов под руководством Luria N. в 2017 г., были получены отрицательные результаты [12]. Ученые продолжают проводить исследования по уточнению круга растений – хозяев данного вируса.

Проявление симптомов на зараженных растениях зависит от вида и сорта растения, инфекционности вируса и условий окружающей среды. Растения, зараженные ToBRFV, сразу не проявляют визуальных симптомов, в семенах инфекция сохраняется латентно.

Симптомы, вызываемые ToBRFV, на растениях достаточно разнообразны и не являются специфическими: они могут быть легко спутаны с признаками поражения вирусом мозаики пегино (PerMV), вирусом хлоротической пятнистости фисташки (PhCMoV), вирусом томатной мозаики (ToMV) и вирусом табачной мозаики (TMV).

На томатах, инфицированных ToBRFV, чаще всего можно наблюдать: хлороз, мозаику, деформацию, игольчатость (рис. 1), пузырчатость (рис. 2), постепенное увядание листьев с последующим пожелтением и гибелью растений (рис. 3); появление коричневых некротических поражений на стеблях, чашелистиках и черешках; хлоротическую пятнистость, мраморность, морщинистость, деформацию и неравномерное созревание плодов (рис. 4–5).

У томата идентифицировано 3 гена длительной устойчивости, которые обеспечивают полную устойчивость к нескольким тобамовирусам. Однако ToBRFV преодолел все эти гены устойчивости. В настоящее время доказано, что ни один коммерческий сорт томата не обладает полной устойчивостью к вирусу коричневой морщинистости плодов томата [12].

Сорта перца, инфицированные ToBRFV (рис. 6), у которых отсутствуют L-гены устойчивости, часто поражаются смешанной инфекцией. У растений перца, содержащих гены устойчивости, при заражении наблюдается реакция сверхчувствительности, которая включает в себя некротические повреждения на корнях и стеблях (рис. 7), что приводит к замедлению роста и дальнейшей гибели растений.

В настоящее время достоверной информации о распространении ToBRFV очень мало.

Весьма вероятно, что Tomato brown rugose fruit virus может присутствовать в странах, где на данный момент он официально не зарегистрирован. Связано это прежде всего с тем, что первое упоминание о вирусе в научной литературе датируется 2016 г. [15], до этого времени вирус не регулировался странами. В литературных источниках неоднократно сообщалось о перехватах вируса в зараженных семенах и плодах растений-хозяев при импорте из стран, где нет официальной информации о распространении ToBRFV [6, 13].

Впервые вирус коричневой морщинистости плодов томата был выделен из растений томата, выращенных в теплицах Иордании в 2015 г. [15]. До этого, в 2014 г., на юге Израиля была отмечена вспышка нового заболевания, поражающего устойчивые сорта томатов, возделываемые в условиях закрытого грунта. Впоследствии было установлено, что заболевание вызвано ToBRFV [12].

method of polymerase chain reaction (PCR). Experts concluded that this positive result could have been obtained due to contact contamination and not due to systemic infection transmitted by seeds. In Mexico, cauliflower *Brassica oleracea* var. *botrytis* is reported as a host plant of Tomato brown rugose fruit virus. After unusual symptoms were observed on cauliflower plants during the growing cycle in the open field production, the plants were tested for ToBRFV using PCR method, and the result came back positive. However, virologists believe that a positive result of the PCR test may be due to contamination by contact or contamination occurred in the laboratory during testing. At present, there is not enough evidence available to consider aubergine and cauliflower as host plants of ToBRFV. Negative results were obtained through tests carried out in 2017 by a group of specialists under Luria N. supervision in order to determine that Tomato brown rugose fruit virus might be transmitted to potato plants [12]. Research is underway to confirm the host range of the virus.

On infected plants, symptoms vary depending on the species and variety of plant, infectivity and environment. Plants infected with ToBRFV may show no obvious symptoms; seeds can be infected asymptotically.

Symptoms on plants infected with ToBRFV vary significantly and are non-specific. They may be easily



Рис. 2. Сильная мозаика и пузырчатость на листьях томата (Сицилия, Италия, 2018) (фото: Prof. Salvatore Davino). Источник: EPPO global database / Severe mosaic and blistering on tomato leaves (Sicily, Italy, October 2018)

Вирус очень быстро распространяется на обширные территории и за последние 2 года значительно расширил свой ареал. Сообщения о его первом обнаружении были опубликованы в некоторых странах Европы, Азии и Америки. Так, в период 2018–2020 гг. ToBRFV был выявлен в следующих странах: Германии (2018) – очаг ликвидирован, США (2018) – очаг ликвидирован, Италии (2018), Мексике (2019), Китае (2019), Греции (2019), Испании (2019), Нидерландах (2019), Турции (2019), Великобритании (2019), Франции (2020), Египте (2020), Польше (2020) [6].

По информации Американской ассоциации торговли семенами (ASTA), ToBRFV также был обнаружен в Саудовской Аравии, Чили, Эфиопии и Судане. Были отмечены неоднократные перехваты вируса на семенах и плодах томата из Египта, Перу, Доминиканской Республики, Индии. Однако информация о распространении вируса в вышеуказанных странах не подтверждена официально национальными организациями по карантину и защите растений (НОКЗР) данных стран [2, 6].

Ущерб от вируса коричневой морщинистости плодов томата выражается в значительном уменьшении количества и качества томатов и перца при их производстве. Tomato brown rugose fruit virus приводит к снижению общего урожая плодов (в кг/растение) на 25–50% за 4 месяца, а также к уменьшению размера плодов от 19% до 54% [3]. Плоды с симптомами имеют нетоварный вид и теряют рыночную стоимость. Заражение вирусом значительно снижает жизнеспособность растений. Поражение ToBRFV чувствительных сортов томатов



Рис. 3. Симптомы увядания на растениях томата в условиях теплицы (Германия, 2018) (фото: Heike Scholz-Döbelin (LWK NRW)).
Источник: EPPO global database / Wilting symptoms under glasshouse conditions (Germany, 2018)

confused with pepino mosaic virus (PepMV), physostegia chlorotic mottle virus (PhCMoV), tomato mosaic virus (ToMV) and tobacco mosaic virus (TMV).

The following virus symptoms may be often observed on tomato infected with ToBRFV: chlorosis, mosaic patterns, deformation, narrowing (Fig. 1), blistering of leaf surface (Fig. 2), wilting of leaves, followed by yellowing and plant death (Fig. 3); brown necrotic lesions may appear on pedicles, calyces, and petioles; chlorotic spots, marbling, brown rugose (wrinkled) patches, deformation and uneven ripening of fruits (Fig. 4–5).

Three L resistance genes were identified in tomato which give resistance against several tobamoviruses. However, ToBRFV overcame all these resistance genes. No commercial varieties of tomato are known to be resistant to Tomato brown rugose fruit virus [12].

In pepper varieties infected with ToBRFV (Fig. 6) that do not harbour the L resistance genes, ToBRFV often occur in mixed infections. Infected pepper plants, harbouring the resistance genes react with a hypersensitive response developing necrotic lesions on roots and stems (Fig. 7), followed by growth reduction and plant death.

At present, limited data is available about the distribution of ToBRFV.

Most likely, Tomato brown rugose fruit virus may be present in those countries where it is not officially recorded. Since the virus was first described in the scientific literature in 2016 [15], it had not been regulated by countries. According to literature, there were numerous interceptions of the virus on infected seeds and fruits of host plants, originated from countries where ToBRFV was not officially recorded [6, 13].

Tomato brown rugose fruit virus was first identified on tomatoes in greenhouses in Jordan in 2015 [15]. Before that, in 2014, an outbreak of an unfamiliar virus, affecting resistant tomato varieties in the protected productions, occurred in the south of Israel. Later on it was confirmed that the symptoms were caused by ToBRFV [12].

The virus is rapidly spreading to new territories and has considerably expanded its range for the last 2 years. It was reported that it was first observed in several countries in Europe, Asia and America. Therefore, since 2018 until 2020 ToBRFV was observed in the following countries: Germany (2018) – eradicated, USA (2018) – eradicated, Italy (2018), Mexico (2019), China (2019), Greece (2019), Spain (2019), the Netherlands (2019), Turkey (2019), United Kingdom (2019), France (2020), Egypt (2020), Poland (2020) [6].

According to the American Seed Trade Association (ASTA), ToBRFV occurrences have been reported in Saudi Arabia, Chile, Ethiopia and Sudan. There were numerous reports of interceptions of the virus on tomato seed and fruit originated from Egypt, Peru, the Dominican Republic, India. However, the distribution of the virus in the above countries was not officially confirmed by the National Plant Protection Organizations (NPPO) of those countries [2, 6].

Tomato brown rugose fruit virus can cause a considerable reduction of quantity and quality of tomato



Рис. 4. Симптомы ToBRFV на плоде томата: коричневая морщинистость (фото: Diana Godínez).
Источник: EPPO global database / Symptoms on tomato fruit

приводит к полной гибели растений (в Мексике вирус инфицировал до 100% растений в одной культуре и вызывал 30–70%-ю потерю урожая на одном из предприятий, занятом производством томатов) [4]. Помимо прямых потерь урожая, экономический ущерб выражается затратами на применение санитарно-гигиенических мероприятий. В некоторых случаях при обнаружении ToBRFV в хозяйствах производители томатов переориентировали производство на растения, не повреждаемые вирусом, но менее прибыльные в экономическом плане.

В странах, где фитосанитарные меры были применены после первого обнаружения вируса, основные потери понесли конкретные предприятия, где был выявлен вирус. Например, в Турции ToBRFV было заражено 0,7 га теплиц томатов [9]. Зараженные растения были удалены из теплицы и уничтожены, после чего были проведены масштабные мониторинги по всей стране.

Главным путем, с которым вирус коричневой морщинистости плодов томата может проникнуть и распространиться на территории Российской Федерации и стран ЕАЭС, является международная торговля семенным материалом известных растений-хозяев: томата и разных видов перцев. Вирусные частицы ToBRFV чрезвычайно стабильны, и инфекция сохраняется в семенах в течение нескольких лет. Даже низкий процент передачи заболевания может привести к небольшому очагу инфекции, и эта инфекция может затем очень быстро распространиться посредством механических контактов в пределах места производства [5].

Ввиду того что зараженные семена не проявляют никаких симптомов заболевания, при отсутствии тестирования семенного материала



Рис. 5. Симптомы ToBRFV на плоде томата: мраморность и обесцвечивания (фото: Prof. Salvatore Davino).
Источник: EPPO global database / Tomato fruits showing marbling and decolorations

and pepper produced by growers. Tomato brown rugose fruit virus causes reduction of fruit yield (kg per plant) up to 25–50% within 4 months, as well as reduction in fruit size from 19% to 54% [3]. Due to symptoms, fruits lose market value and can be unmarketable. Infection results in reduction of plant viability. ToBRFV causes death of the whole plant when infecting sensitive tomato varieties (in Mexico, the virus infected up to 100% of plants of one species and caused 30–70% loss of tomato yield in one of the tomato productions) [4]. Besides the direct yield losses, the virus can result in economic impact on the growers in the event they have to cover costs for taking sanitary and hygiene measures. For instance, some tomato growers had to switch to production of plants that could not be damaged by the virus, but turned out to be less profitable for business.

In countries, where the phytosanitary measures were taken upon the first detection of the virus, only those growers who detected the virus had suffered yield losses. For example, in Turkey 0,7 ha of tomato greenhouses was found to be infected with ToBRFV [9]. Infected plants were removed from the greenhouse and destroyed, then extensive monitoring of the situation in the entire country followed.

The main pathway for the introduction and long distance spread of Tomato brown rugose fruit virus into the Russia Federation and EAEU countries is international trade of seed material of known host plants: tomato and different pepper varieties. ToBRFV virus



Рис. 6. Симптомы ToBRFV на плодах перца (фото: Dr Raed Alkowni).
Источник: EPPO global database / Symptoms on pepper fruits

инфекция может проявиться только на следующий год во время вегетации растений, при этом вирус может распространиться на все растения-хозяева в пределах участка производства.

ToBRFV имеет множество путей проникновения и очень быстро распространяется контактным способом в случае, когда не соблюдаются технология производства и фитосанитарные меры при производстве плодов и семян томата и перца (главным образом в условиях защищенного грунта).

В условиях теплицы тобамовирус, присутствующий на семенной оболочке, может передаваться корням будущих растений через поранения во время трансплантации [5]. При попадании вируса в растение он очень быстро размножается.

В пределах места производства вирус распространяется от растений-хозяев, а также их частями и остатками. Свежие плоды томатов и перца также могут являться источником проникновения и распространения ToBRFV на новые территории, при этом доказано, что плоды томата могут иметь очень высокую вирусную нагрузку [7]. В международной фитосанитарной практике вирус был неоднократно перехвачен на этом пути проникновения: зараженные плоды томатов из Египта были перехвачены в Нидерландах [7], инспекторами FDACS вирус был обнаружен в мексиканских томатах на границе США [8]. Весной 2020 г. ToBRFV был выявлен в плодах томата, импортируемых из Доминиканской Республики в США [6].

Однако, специалисты-вирусологи полагают, что только поврежденные плоды (из которых выпущен сок) могут представлять высокую опасность, так как загрязняют контейнеры или другие плоды. Контейнеры, использованные для производства

particulate matter are stable and the infection can survive in seeds for several years. Even low transmission rate of the disease can result in a minor outbreak, contributing to a rapid transmission of infection via contact within the production site [5].

Although seeds can be infected asymptomatically, without laboratory testing of seed material the infection can be detected next year during the growing cycle, and moreover, the infection can be spread to all host plants within the production site.

There are many pathways of ToBRFV, and it can be quickly spread via contact if proper production process and phytosanitary practices are not put in place during production of tomato and pepper fruit and seed (especially in protected productions).

In the greenhouse, tobamovirus contaminates the seed coat, can enter through small wounds during transplant production and spread further to roots of the growing plants [5]. After entering the plant, the virus will reproduce very quickly.

In the production site, the virus is spread with infected host plants, as well as with their parts and residues. Fresh tomato and pepper fruits can also be a pathway for introduction and spread of ToBRFV into new territories. Besides, it has been proved that the tomato fruit can develop a high virus level [7]. According to updates on global phytosanitary situation, there have been numerous interceptions of ToBRFV with imported tomato fruit: interception of infected tomato fruit imported from Egypt to the Netherlands [7], FDACS inspectors intercepted ToBRFV in packaged Mexican tomatoes entering the USA [8]. In spring of 2020, ToBRFV was detected in tomato fruit imported from the Dominican Republic to the United States [6].

However, according to virologists, only damaged fruit (if the sap is released) can pose a high risk as it may be able to contaminate other fruits or containers. Containers used for fruit production and transportation, tools, equipment, packaging and vehicles, involved in the production and transportation of tomato and pepper consignments, may definitely pose a risk of spread. Tobamoviruses are extremely stable and are able to survive outside the host plant for long periods on a range of surfaces. Recent research conducted by Fera (United Kingdom) showed that heat treatments of pots, crates and trays for 5 min at 90 °C will help to inactivate Tomato brown rugose fruit virus [6, 14].

Growers of the main host plants (greenhouse tomato producers and producers specializing on growing tomato and pepper) may be at risk of virus introduction into their production sites where imported tomato and pepper fruits are stored and packaged, once they receive consignments with infected tomato and pepper (for consumption).

The virus can also be transmitted by contaminated dried tomato and pepper fruit. Studies showed that the virus can survive in dried tomato and pepper or dried tomato and/or pepper products for several months.

Spread of ToBRFV within the Russian Federation with tomato and pepper fruits (fresh or dried) and

и транспортировки плодов, инструменты, оборудование, упаковочный материал и транспортные средства, связанные с цепочкой производства и поставки томатов и перца, могут представлять определенную опасность и способствовать распространению вируса. Тобамовирусы очень устойчивы и могут выживать вне хозяина на различных инертных поверхностях в течение долгого времени. Недавние исследования, проведенные в Fera (Великобритания), показывают, что обработка горшков, ящиков и поддонов для рассады в течение 5 мин в водяной бане при 90 °C полностью инактивирует вирус коричневой морщинистости плодов томата [6, 14].

Путь проникновения вируса с плодами томата и перца (ввиду назначения продукции – употребление в пищу) может представлять опасность в том случае, если пункт назначения импортируемых плодов, где предполагается их хранение и упаковка, – это предприятие по выращиванию основных растений-хозяев (тепличные хозяйства и агропредприятия, специализирующиеся на производстве томатов и перцев).

Также путем проникновения вируса являются сушеные плоды томатов и перцев. Исследованиями доказано, что вирус сохраняет жизнеспособность в сушеных томатах и перцах или продуктах из томатов и /или перца в течение нескольких месяцев.

Распространение ToBRFV внутри Российской Федерации с плодами (свежими и сушеными) и проникновение вируса на участки производства с импортируемыми плодами возможны в случае несоблюдения правил производства продукции – томатов и перца или при получении семян из зараженных плодов.

В случае проникновения в тепличное хозяйство, ToBRFV очень легко переносится механически через сотрудников агропредприятий при проведении различных агротехнических мероприятий, а также через оборотную воду в случае использования гидропонии. Необходимо тщательно соблюдать меры предосторожности, работая с растениями как в закрытом, так и в открытом грунте; не заносить плодовоовощную продукцию извне в зону выращивания; проводить стерилизацию инструментов после каждого контакта с растением, оборудования, лотков и контейнеров в случае их повторного использования (стерилизацию осуществлять разрешенными хлорсодержащими препаратами и другими дезинфицирующими средствами с вирулицидным эффектом и посредством термических обработок).

ToBRFV также способен распространяться насекомыми-опылителями (шмелями) и пылью.

Борьба с вирусными болезнями трудная, в случае эпифитотий необходимы: уничтожение инфицированных растений, борьба с возможными переносчиками, механической передачей инфекции, использование растительного материала, свободного от вирусов. В настоящее время отсутствуют зарегистрированные препараты против ToBRFV с доказанной эффективностью.

Группа тобамовирусов имеет высокую инфекционную способность. Сочетание следующих мер для ограничения воздействия на восприимчивые культуры считается эффективным в отношении защиты от тобамовирусов:

- использование сертифицированного безвирусного семенного и посадочного материала;

introduction of the virus into the production sites with imported tomato and pepper fruit, can be prevented if growers of tomato and pepper or tomato and pepper seeds follow the best production practices and avoid producing seeds from infected fruits.

Once ToBRFV is already present in the greenhouse, it can be easily transmitted mechanically by staff during different agro-technical activities, as well as through circulating water when hydroponics is used. Thorough precautionary measures should be followed when handling plants in protected or open field productions; avoid bringing fruit and vegetable products to the production site; sterilize tools after each plant, sterilize equipment, trays and containers after each use (heat treatment must be used, as well as sterilization with authorized chlorine based disinfectants and other virucidal chemicals).

ToBRFV may also be transmitted mechanically by insect pollinators (bumblebees) or during pollination.

Potential control measures for viral diseases are very limited. Once an outbreak of ToBRFV occurs, it is necessary to eliminate infected plants, control possible vectors, mechanical transmission of infection, and use virus free planting material. At present, approved antiviral products to effectively control ToBRFV are not available.

Tobamoviruses are highly virulent viruses. Combination of the following measures is considered to be effective in order to restrict the impact on susceptible species:

- use of certified virus free propagation and seed material;
- treatment of soil before planting and seeding;
- monitoring of the seedlings, sampling of symptomatic plants for laboratory testing;
- destruction, preferably by incineration of infected plants, including roots;
- cleaning and disinfection of all materials and equipment.

To avoid accumulation of soil pathogens, ensure the plant trays are cleaned, sterilized with chlorine based disinfectants and heat treated after each use [14].

It is prohibited to move substrate and nutrient solutions, soil, protective clothing, tools and containers from an infected production site to a non-infected one. When handling susceptible species, it is necessary that the staff follow strict hygiene and sanitation measures by cleaning hands, clothing, trays, pots and tools with disinfectants.

Due to rapid spread and detection of ToBRFV in a number of countries that are producers and exporters of tomato and pepper seed and fruit, in 2019, the Secretariat decided to add it to the EPPO Alert List. The EU Commission established emergency measures to prevent the introduction into, and the spread within the EU territory of Tomato brown rugose fruit virus, that was included in the plant health legislature of the EU. This decision will apply from November 1, 2019 until March 31, 2022 [7].

In 2019, Tomato brown rugose fruit virus was added to the A1 List (A1 pests are absent from the EPPO region) of Argentina and Chile [6].

- обеззараживание почвы перед посевом или посадкой;
- мониторинг посадок, отбор симптоматичных растений и лабораторная диагностика;
- уничтожение зараженных растений, в том числе корней, желательнo сжиганием;
- санация и очистка всех материалов и оборудования.

Во избежание накопления почвенных патогенных микроорганизмов перед повторным использованием поддоны для растений необходимо очищать, стерилизовать дезинфицирующими хлорсодержащими средствами и подвергать термической обработке [14].

Запрещается перемещать субстраты или питательные среды, почву, защитную одежду, инструменты и контейнеры с зараженных производственных площадок на здоровые. При работе с восприимчивыми культурами необходима дезинфекция рук и одежды сотрудников предприятия, посадочных лотков, горшков и инструментов с помощью дезинфицирующих средств.

Ввиду очень быстрого распространения и обнаружения ToBRFV в ряде стран, занимающихся производством и дальнейшим экспортом семян и плодов томатов и перцев, в 2019 г. Секретариат ЕОКЗР принял решение включить ToBRFV в Сигнальный перечень. Комиссия Европейского союза установила экстренные меры для предотвращения проникновения и распространения на территории внутри стран ЕС вируса коричневой морщинистости плодов томата, что отражено в новом фитосанитарном законодательстве Европейского союза. Данное решение вступило в силу с 1 ноября 2019 г. и будет действовать до 31 марта 2022 г. [7].

В 2019 г. вирус коричневой морщинистости плодов томата был включен в карантинный перечень (список отсутствующих вредных организмов – A1) Аргентины и Чили [6].

5 июня 2020 г. Служба инспекции здоровья животных и растений (APHIS) Министерства сельского хозяйства США внесла изменения в ограничения на ввоз томатов (*Solanum lycopersicum*) и перца (*Capsicum* spp.). Импортируемые растительные продукты томатов и перцев из других стран должны быть без признаков ToBRFV. Посадочный и семенной материал должен быть свободен от ToBRFV, происходить из свободной зоны производства, что должно быть подтверждено отрицательными результатами тестирования.

APHIS вводит ограничения на импорт свежих плодов томата и перца для потребления из тех стран, где присутствует ToBRFV и импорт из которых разрешен в Соединенные Штаты (Доминиканской Республики, Франции, Израиля, Мексики, Нидерландов и Испании). APHIS признает, что фитосанитарный риск, связанный с зараженными томатами и перцем, считается низким, однако на границе страны были неоднократные перехваты ToBRFV в плодах. В настоящее время при импорте из указанных выше стран плодов томата и перца APHIS требует фитосанитарный сертификат и дополнительную декларацию о том, что плоды были проверены и признаны свободными от ToBRFV.

Как можно более раннее выявление и ликвидация источников вируса, использование безвирусного семенного материала, предотвращение



Рис. 7. Реакция гиперчувствительности растений перца (несущих гены L 1, 3, 4) при механическом заражении ToBRFV: апоптоз клеток листьев (фото: Aviv Dombrovsky). Источник: EPPO global database / Pepper plants (harboring L1,3,4) hypersensitivity response (HR) to infection. Symptoms developed following sap-mechanical leaves inoculation showing dried apoptotic leaves

Effective June 5, 2020, the United States Department of Agriculture, Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS) amended the restrictions for the importation of tomato (*Solanum lycopersicum*) and pepper (*Capsicum* spp.). Imports of tomato and pepper from other countries must not show any signs of ToBRFV upon arrival to the United States. Imports of propagative material (plants for planting, seeds) must be free from ToBRFV and originate from an area free of the pest, which should be confirmed by the negative results of diagnostic testing.

APHIS will place restrictions on imports of fresh tomato and pepper fruit for consumption from those countries where ToBRFV is present, and that are approved to export to the United States (the Dominican Republic, France, Israel, Mexico, the Netherlands and Spain). Although the phytosanitary risk associated with the infected tomato and pepper fruit is considered to be low, APHIS has intercepted ToBRFV in tomato consignments on numerous occasions. Currently, APHIS will require that the above countries that already require a phytosanitary certificate for tomato and pepper fruit to now include an additional declaration that the fruits were inspected and found free of ToBRFV.

Early detection of virus and elimination of infected plants, the use of virus free planting material, and

механического заражения являются очень важной предпосылкой для успешной борьбы с ToBRFV.

Принимая во внимание высокую патогенность вируса коричневой морщинистости плодов томата, его большую скорость распространения и вероятность проникновения, можно утверждать, что разработка и совершенствование методов его диагностики – актуальные задачи.

Наиболее экономичным и распространенным методом выявления и идентификации вирусов является иммуноферментный анализ (ИФА). Метод диагностики вирусов растений, основанный на серологическом методе иммуноферментного анализа, был успешно адаптирован для выявления группы тобамовирусов. В настоящее время доступны коммерческие наборы ИФА, однако эти наборы не являются видоспецифичными для ToBRFV из-за перекрестной реакции с другими тобамовирусами.

Для выявления ToBRFV в семенах, а также в симптоматичных и бессимптомных растениях или плодах применяют ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) с использованием универсальных или видоспецифичных праймеров для ToBRFV [11].

В настоящее время специалисты научно-методического отдела вирусологии и бактериологии (НМОВБ) ФГБУ «ВНИИКР» в рамках Государственного задания ведут работу по подготовке анализа фитосанитарного риска (АФР) вируса коричневой морщинистости плодов томата для территории Российской Федерации, а также осуществляют поиск специфичных и высокочувствительных методов диагностики.

На сегодняшний день специалистами научного подразделения ФГБУ «ВНИИКР» было протестировано более 200 образцов растений – хозяев ToBRFV. Для идентификации ToBRFV после ПЦР с универсальными праймерами использовали секвенирование с универсальными праймерами к роду тобамовирусов. Вирус коричневой морщинистости плодов томата выявлен не был.

В 2020 г. стартует международный проект EUPHRESO «Отработка и валидация методов молекулярной диагностики ToBRFV в семенах томата, перца и баклажана». Специалисты НМОВБ ФГБУ «ВНИИКР» принимают участие в данном проекте, результаты которого будут использованы при подготовке методических рекомендаций по выявлению и идентификации вируса коричневой морщинистости плодов томата.

ЛИТЕРАТУРА

1. Цыдендамбаев А.Д. Тепличный практикум: «Томаты: технология» (дайджест журнала «Мир Теплиц»). – М., 2018. – 294 с.
2. ASTA. Questions & Answers on the new Tobamovirus: Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV) / ASTA (American Seed Trade Association). – 2018. – 5 p. – URL: <https://www.betterseed.org/asta-offers-new-resources-on-tomato-brown-fruit-rugose-virus-tobrfv/> (дата обращения: 03.07.2020).
3. Avni B., Gelbart D., Sufrin-Ringwald T., Zinger A., Chen L., Machbash Z., Bekelman I., Segoli M., Dombrovsky A., Kamenetsky R., Levin I. & Lapidot M. Tomato genetic resistance to tobamoviruses is compromised // Acta Horticulturae. – 2020. – P. 1–9.
4. Cambrón-Crisantos J.M., Rodríguez-Mendoza J., Valencia-Luna J.B., Alcasio Rangel S.,

prevention of mechanical transmission are very effective measures to control ToBRFV.

Considering high pathogenicity, widespread distribution and likelihood of introduction of Tomato brown rugose fruit virus, it can be assumed, that it is critical to develop and improve ToBRFV detection methods.

Immunofluorescence assay (IFA) is the most common and cost effective test for the detection and identification of viruses. Diagnostic method for the detection of viruses in plants, based on serological testing by the immunofluorescence assay, was successfully validated for the detection of tobamoviruses group. IFA commercial kits currently available were found to cross-react with other tobamoviruses and were not species specific.

For the detection of ToBRFV in the seed, symptomatic and asymptomatic plants and fruits, a reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) is used based on universal ToBRFV species specific primers [11].

Within the framework of the Order of the Russian Government, the Pest Risk Analysis of Tomato brown rugose fruit virus of the territory of the Russian Federation is underway by the specialists from the Scientific and Methodological Department of Virology and Bacteriology (SMDVB) of the FGBU “VNIKR”, including the development of highly sensitive and specific diagnostic methods.

More than 200 samples of host plants infected with ToBRFV have been currently tested in the laboratories of the FGBU “VNIKR”. Following the PCR test using universal primers, sequence analysis with universal primers was used for identification of ToBRFV. Tomato brown rugose fruit virus was not detected.

In 2020, EUPHRESO has launched a project Development and validation of molecular diagnostic methods for the detection of ToBRFV in tomato, pepper and aubergine seeds. Among the participants of the project are the specialists from the SMDVB of the FGBU “VNIKR”. Results obtained within the framework of the project will be used to prepare methodological recommendations for the detection and identification of Tomato brown rugose fruit virus.

REFERENCES

1. Tsydendambaev A.D. Greenhouse workshop: “Tomatoes: technology” [Teplichny Praktikum: “Tomaty: technologiya”]. *Mir Teplits* digest. M., 2018. 294 p. (In Russian).
2. ASTA. Questions & Answers on the new Tobamovirus: Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV). ASTA (American Seed Trade Association). 2018. 5 p. URL: <https://www.betterseed.org/asta-offers-new-resources-on-tomato-brown-fruit-rugose-virus-tobrfv/> (accessed date: 03.07.2020).
3. Avni B., Gelbart D., Sufrin-Ringwald T., Zinger A., Chen L., Machbash Z., Bekelman I., Segoli M., Dombrovsky A., Kamenetsky R., Levin I. & Lapidot M. Tomato genetic resistance to tobamoviruses is compromised. *Acta Horticulturae*. 2020: 1–9.
4. Cambrón-Crisantos J.M., Rodríguez-Mendoza J., Valencia-Luna J.B., Alcasio Rangel S.,

García-Ávila C. de J., López-Buenfil J.A. & Ochoa-Martínez D.L. First report of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Michoacan, Mexico // *Mexican Journal of Phytopathology*. – 2018. – Vol. 37, No. 1. – P. 1–8.

5. Dombrovsky A. & Smith E. Seed Transmission of Tobamoviruses: Aspects of Global Disease Distribution // *In Advances in Seed Biology*. – INTECH, 2017. – Chapter 12. – P. 233–260.

6. EPPO Global Database, 2020. – URL: <https://gd.eppo.int> (дата обращения: 03.07.2020).

7. EU. Interceptions of commodities imported into the EU or Switzerland with harmful organism(s). Notified during the month of November 2019. EUROPHYT – European Union Notification System For Plant Health Interceptions. – November 2019. – 35 p. – URL: https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/europhyt/interceptions_en (дата обращения: 03.07.2020).

8. FDACS. Virus in Mexican Tomatoes Causing Concern, USDA Action Needed / Florida Department of Agriculture and Consumer Services (FDACS). – 2019.

9. Fidan H., Sarikaya P. & Calis O. First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey // *New Disease Reports*. – 2019. – Vol. 39 (May). P. 18. – URL: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.018>.

10. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. – URL: <http://www.fao.org> (дата обращения: 03.07.2020).

11. Li Y., Tan G., Lan P., Zhang A., Liu Y., Li R. & Li F. Detection of tobamoviruses by RT-PCR using a novel pair of degenerate primers // *Journal of Virological Methods*. – 2018. – Vol. 259 (September). – P. 122–128.

12. Luria N., Smith E., Reingold V., Bekelman I., Lapidot M., Levin I., Elad N., Tam Y., Sela N., Abu-Ras A., Ezra N., Haberman A., Yitzhak L., Lachman O. & Dombrovsky A. A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-2 2 Resistance Genes // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12, No. 1. – P. 1–19.

13. Oladokun J.O., Halabi M.H., Barua P. & Nath P.D. Tomato brown rugose fruit disease: current distribution, knowledge and future prospects // *Plant Pathology*. – 2019. – Vol. 68, No. 9. – P. 1579–1586. URL: <https://doi.org/10.1111/ppa.13096>.

14. Richter E., Leucker M., Heupel M., Büttner C., Bandte M. & Ziebell H. Viren in Gemüse bekämpfen – Vorbeugen ist besser als Vernichten // *Gemüse*. – 2019. – Vol. 55, No. 3. – P. 18–21.

15. Salem N., Mansour A., Ciuffo M., Falk B.W. & Turina M. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan // *Archives of Virology*. – 2016. – Vol. 161, No. 2. – P. 503–506.

16. SENASICA. Virus Rugoso del Tomate // *Info Senasica*. – 2019. – Vol. 1. – P. 8–10.

García-Ávila C. de J., López-Buenfil J.A. & Ochoa-Martínez D.L. First report of Tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV) in Michoacan, Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology*. 2018; 37 (1): 1–8.

5. Dombrovsky A. & Smith E. Seed Transmission of Tobamoviruses: Aspects of Global Disease Distribution. In *Advances in Seed Biology*. INTECH, 2017; Chapter 12: 233–260.

6. EPPO Global Database, 2020. URL: <https://gd.eppo.int> (accessed date: 03.07.2020).

7. EU. Interceptions of commodities imported into the EU or Switzerland with harmful organism(s). Notified during the month of November 2019. EUROPHYT – European Union Notification System For Plant Health Interceptions. November 2019. 35 p. URL: https://ec.europa.eu/food/plant/plant_health_biosecurity/europhyt/interceptions_en (accessed date: 03.07.2020).

8. FDACS. Virus in Mexican Tomatoes Causing Concern, USDA Action Needed. Florida Department of Agriculture and Consumer Services (FDACS). 2019.

9. Fidan H., Sarikaya P. & Calis O. First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato in Turkey. *New Disease Reports*. 2019; 39 (May): 18. URL: <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2019.039.018>.

10. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020. URL: <http://www.fao.org> (accessed date: 03.07.2020).

11. Li Y., Tan G., Lan P., Zhang A., Liu Y., Li R. & Li F. Detection of tobamoviruses by RT-PCR using a novel pair of degenerate primers. *Journal of Virological Methods*. 2018; 259 (September): 122–128.

12. Luria N., Smith E., Reingold V., Bekelman I., Lapidot M., Levin I., Elad N., Tam Y., Sela N., Abu-Ras A., Ezra N., Haberman A., Yitzhak L., Lachman O. & Dombrovsky A. A New Israeli Tobamovirus Isolate Infects Tomato Plants Harboring Tm-2 2 Resistance Genes. *PLoS ONE*. 2017; 12 (1): 1–19.

13. Oladokun J.O., Halabi M.H., Barua P. & Nath P.D. Tomato brown rugose fruit disease: current distribution, knowledge and future prospects. *Plant Pathology*. 2019; 68 (9): 1579–1586. URL: <https://doi.org/10.1111/ppa.13096>.

14. Richter E., Leucker M., Heupel M., Büttner C., Bandte M. & Ziebell H. Viren in Gemüse bekämpfen – Vorbeugen ist besser als Vernichten. *Gemüse*. 2019; 55 (3): 18–21.

15. Salem N., Mansour A., Ciuffo M., Falk B.W. & Turina M. A new tobamovirus infecting tomato crops in Jordan. *Archives of Virology*. 2016; 161 (2): 503–506.

16. SENASICA. Virus Rugoso del Tomate. *Info Senasica*. 2019; 1: 8–10.

УДК 632.752.3

Микроскопическое исследование диагностических структур самки *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) – карантинного объекта единого перечня ЕАЭС

Н.А. ГУРА, старший научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии
 ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: naguralex@mail.ru

А.В. ШИПУЛИН, младший научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии
 ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: shipulin.andrey2016@yandex.ru

Аннотация. Червец Комстока имеет статус карантинного объекта единого перечня стран ЕАЭС. Основной путь распространения вредного организма – зараженный посадочный материал плодовых, декоративных и лесных культур. Для предотвращения проникновения карантинных видов червецов в свободные зоны РФ необходимо проведение тщательного досмотра подкарантинной продукции, выявление карантинных и близких видов червецов, проведение лабораторного исследования с целью определения их видовой принадлежности. В работе представлены результаты микроскопического исследования строения диагностических структур тела самки *Pseudococcus comstocki* (Kuwana), позволяющие отличать карантинный объект от близкородственных видов мучнистых червецов, выявляемых при лабораторном исследовании.

Ключевые слова. Карантинный вид, мучнистые червецы, диагностические структуры, грибовидные железы, дорсальная и вентральная поверхность тела, церарии, трубчатые железы, многоячеистые железы, просвечивающие поры, задние конечности, лабораторное исследование, микропрепараты.



рождение лабораторного энтомологического исследования различных видов растительной продукции (посадочного материала, горшечных культур, плодов) показывает, что мучнистые червцы довольно часто встречаются на надземных частях различных культур. Червец Комстока *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) входит в Единый пе-

UDC 632.752.3

Microscopic study of diagnostic structures of a female of *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) – quarantine pest of the Unified EAEU List

N.A. GURA, Senior Researcher of Entomological Research and Methodology Department
 of the FGBU “VNIIEKR”, e-mail: naguralex@mail.ru

A.V. SHIPULIN, Junior Researcher of Entomological Research and Methodology Department
 of the FGBU “VNIIEKR”, e-mail: shipulin.andrey2016@yandex.ru

Abstract. *Comstock mealybug* is of quarantine status under the Unified EAEU List. The infested plant material of fruit, horticultural and forest crops is the main way by which the pest is spread. To prevent introduction of quarantine species of mealybugs to pest free areas of the Russian Federation it is necessary to carefully inspect regulated products, detect quarantine and closely related species of mealybugs, conduct laboratory study for species identification. This study presents the results of the microscopic examination of diagnostic structures of the body of a female of *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) that allow to distinguish between a quarantine object and closely related species of mealybugs detectable through a laboratory study.

Keywords. Quarantine species, mealybugs, diagnostic structures, oral-rim tubular ducts, dorsal and ventral body surface, cerarii, oral-collar tubular ducts, multilocular pores, translucent pores, hind legs, laboratory study, slides.

Laboratory entomological research of different plant products (plant material, pot plants, fruits) shows that the mealybugs quite frequently occur on the aerial parts of various

речень (ЕП) карантинных объектов Евразийского экономического союза [4]. Чтобы предотвратить проникновение карантинных объектов в свободные зоны РФ, необходимо проведение тщательного досмотра подкарантинной продукции, выявление карантинных объектов и проведение лабораторного исследования для определения видовой принадлежности выявленных червецов, на основании результатов которого принимаются соответствующие фитосанитарные меры. Целью настоящей работы является подробное микроскопическое исследование основных диагностических структур самки червеца Комстока и их расположения; эти структуры, а также их расположение позволяют отличить карантинный объект *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) от некарантинных видов мучнистых червецов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Подробное изучение особенностей строения основных диагностических структур (церариев, различных типов воскоотделяющих желез, члеников усиков, анального аппарата, просвечивающих пор на задних конечностях) самки червеца Комстока и их расположения проводилось с помощью микроскопов Axio Imager A2, Carl Zeiss Microscopy GmbH (ПО Zen 2.3) с учетом современных технологий микропирования.

Материалом для исследования диагностических структур самок червеца Комстока являлись микропрепараты коллекционного фонда ФГБУ «ВНИИКР», а также спиртовой биологический материал самок червеца Комстока, любезно предоставленный коллегами биологической лаборатории Узбекистана.

Авторы придерживались методики приготовления микропрепаратов из червецов, подробно изложенной ведущими кокцидологами Зоологического института (ЗИН) РАН Е.М. Данциг и И.А. Гавриловым-Зиминим в книге «Фауна России и сопредельных стран», 2014 [1]. Указанная методика включает следующие этапы:

- 1) фиксация материала в 96%-м растворе этанола (или ацетэтаноле);
- 2) первичное анатомирование тела самки в спирте или воде для нанесения надрезов на теле;
- 3) просветление в 8–10%-м растворе щелочи NaOH или KOH (для этого тело самки нагревают, не доводя раствор до кипения, в тигельке или пробирке);
- 4) вторичное анатомирование, включающее удаление из тела самки внутренних включений;
- 5) окраска тела самки раствором фуксина;
- 6) пропитывание промежуточной жидкостью (гвоздичным либо бергамотовым маслом);
- 7) заливка: удаление излишков масла и помещение тела самки в канадский бальзам, накрытие исследуемого образца покровным стеклом для последующего микроскопического исследования.

Тела самок мучнистых червецов содержат большое количество жировых включений, удаление которых является достаточно сложным и трудоемким процессом. От умения правильно удалить включения из тела самки червеца зависит качество приготовленного микропрепарата и результаты исследования.

Большую часть микропрепаратов авторы делали по классической схеме российских кокцидологов



Рис. 1. 8-члениковые усики самки червеца Комстока (фото Н.А. Гурь, А.В. Шипулина)

Fig. 1. 8-segmented antennae of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

crops. Comstock mealybug *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) is included in the Unified EAEU List of quarantine pests [4]. To prevent introduction of quarantine species of mealybugs to pest free areas of RF it is necessary to carefully inspect regulated products, detect quarantine objects and conduct laboratory study for species identification of mealybugs in order to take relevant phytosanitary measures upon results of the study. The aim of this study is to conduct a thorough microscopic examination of the main diagnostic structures of a female Comstock mealybug and their position; these structures and also their position allows to distinguish between quarantine object *Pseudococcus comstocki* (Kuwana) and non-quarantine species of mealybugs.

MATERIAL AND METHODS

A thorough study of morphological characters of the main diagnostic structures (cerarii, different types of wax ducts, antennal segments, anal apparatus, translucent pores on hind legs) of a female Comstock mealybug and their position was conducted using the microscopes Axio Imager A2 and Carl Zeiss Microscopy GmbH (Zen 2.3) with paying special attention to modern microscopy technologies.

Slides from the collection bank of the FGBU “VNIICR” and biological material of female Comstock mealybugs, preserved with ethanol and kindly provided by our colleagues from a biological laboratory in Uzbekistan, were used as materials to study the diagnostic structures of female Comstock mealybugs.

The authors followed the slide mounting techniques described in detail by the leading coccidologists of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences (ZIN) RAN E.M. Danzig and I.A. Gavrillov-Zimin in the book “Fauna of Russia and neighbouring countries”, 2014 [1]. The said techniques include the following steps:

- 1) fixation of specimen in 96% EtOH (or acetone-ethanol);

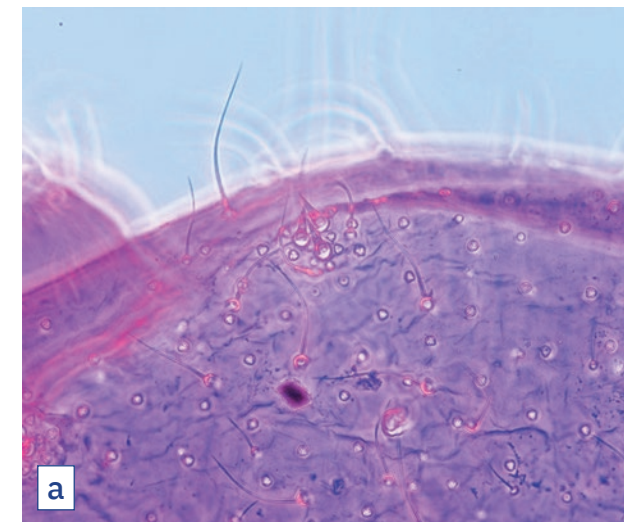


Рис. 2. Церарии самки червеца Комстока (фото Н.А. Гурь, А.В. Шипулина): а – головной церарий с тремя шипами; б – церарий с двумя шипами

Fig. 2. Cerarii of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin): a – cerarius on head with three setae; b – cerarius with two setae

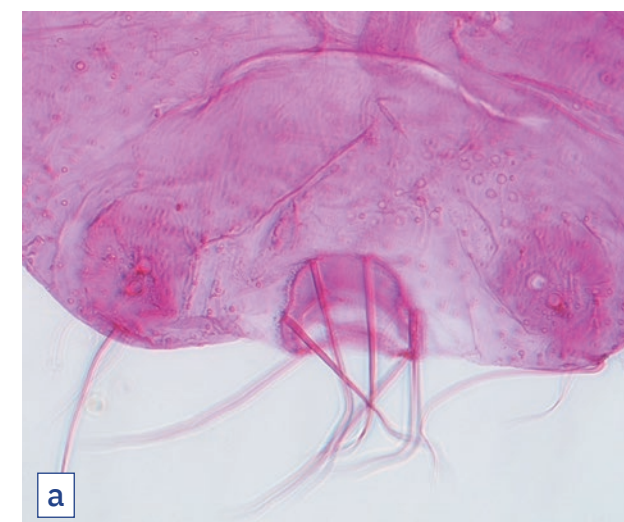
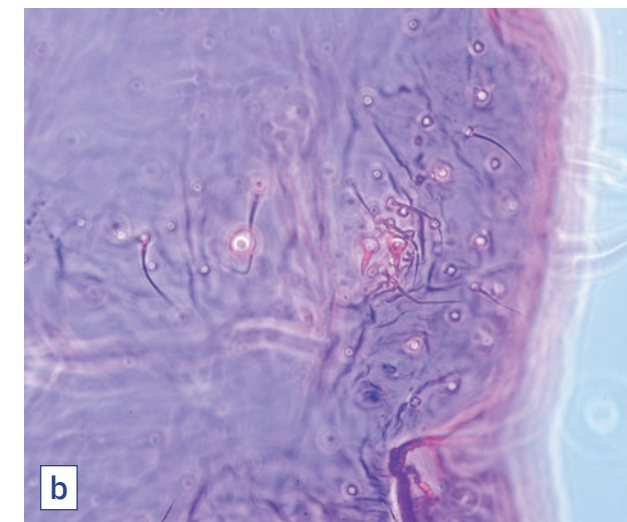


Рис. 3. Анальный церарий самки червеца Комстока: а – строение анальной трубки и анальных церарий самки червеца Комстока; б – хитинизированная пластинка анального церария с двумя конусовидными шипами в окружении трехъячеистых желез (фото Н.А. Гурь, А.В. Шипулина)

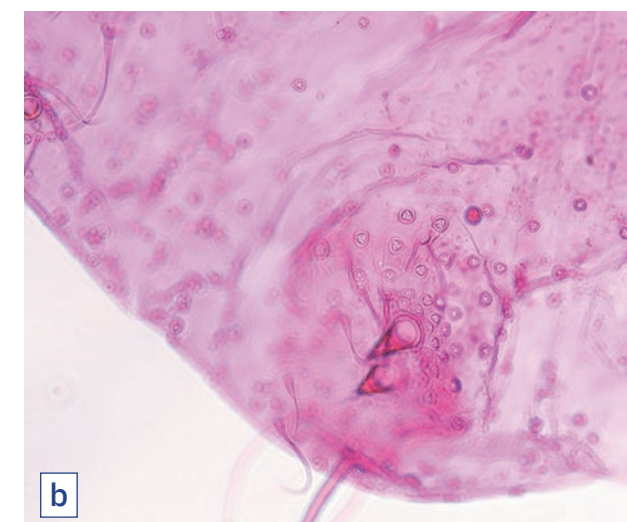


Fig. 3. Anal cerarius of a female Comstock mealybug: a – structure of anal tube and anal cerarii of a female Comstock mealybug; b – chitinized lobe of anal cerarius with two conical setae with attached trilocular pores (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

Данциг Е.М. и Гаврилова-Зимина И.А., а при приготовлении небольшой части микропрепаратов, являющихся экспериментальными, были внесены две следующие модификации.

1. При проведении 3-го этапа – просветления тела самки в 8–10%-м растворе щелочи – в щелочь были добавлены 1–2 капли моющего средства, включающего в состав ПАВ (поверхностно-активные вещества), с целью растворения жировых включений. Результат оказался положительным. Качество тотального препарата из самки червеца оказалось хорошим, жировые включения практически полностью растворились и были легко удалены, что позволило рассмотреть все диагностические признаки самки.

2. При проведении 5-го этапа – «Окраска тела самки» – окрашивание проводилось «Фуорцином», антисептическим препаратом, легко доступным

2) primary dissection of body in alcohol or water to make incisions on the body;

3) clearing body contents in 8–10% solution of NaOH or KOH (heat the solution with a body until boiling in a bowl or tube);

4) secondary dissection to remove body contents;

5) staining body with fuchsin-based solution;

6) oiling in decant liquid (clove or bergamot oil);

7) placing with balsam: removing excess oil, placing body into the Canada balsam, placing coverslip over specimen for future microscopic study.

Bodies of female mealybugs contain numerous fatty tissues which make it time-consuming and very

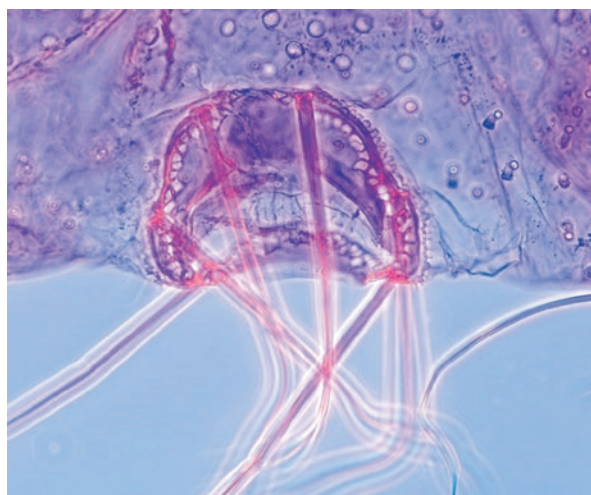


Рис. 4. Анальный аппарат самки червеца Комстока (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 4. Anal area of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

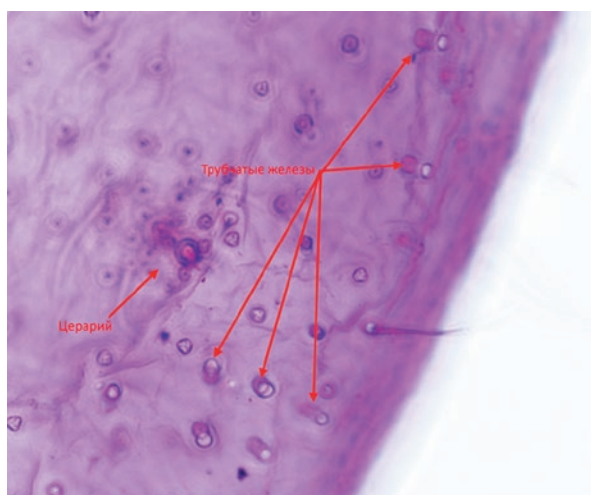


Рис. 5. Крупные трубчатые железы на дорсальной поверхности самки червеца Комстока (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 5. Large tubular ducts on the dorsal body surface of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

и содержащим фуксин. Результат также был положительным: окрашивание диагностических структур прошло быстро и равномерно.

В дальнейшем исследования по разработке оптимальных методов просветления и окрашивания микропрепаратов из мучнистых червецов будут продолжены, поскольку лабораторное исследование выявленных образцов насекомых часто ограничено по времени и требует умения приготовления качественных микропрепаратов для получения достоверного результата исследования.

Последующим этапом настоящего исследования стало помещение на предметное стекло тел самок червецов дорсальной и вентральной поверхностями тела для более подробного изучения таких основных диагностических структур, как количество церариев, размеры и месторасположение различных типов восковых желез (грибовидных, трубчатых, простых дисковидных, многоячеистых), наличие или отсутствие просвечивающих пор на задних конечностях, строение анального церария и другие.

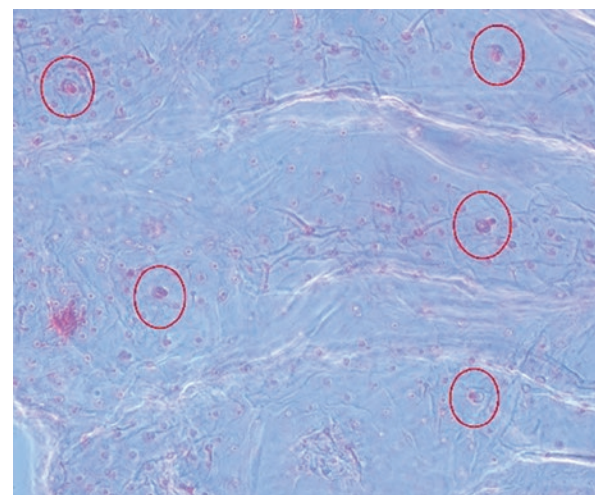


Рис. 6. Грибовидные железы на дорсальной поверхности тела самки червеца Комстока (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 6. Oral-rim ducts on the dorsal body surface of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

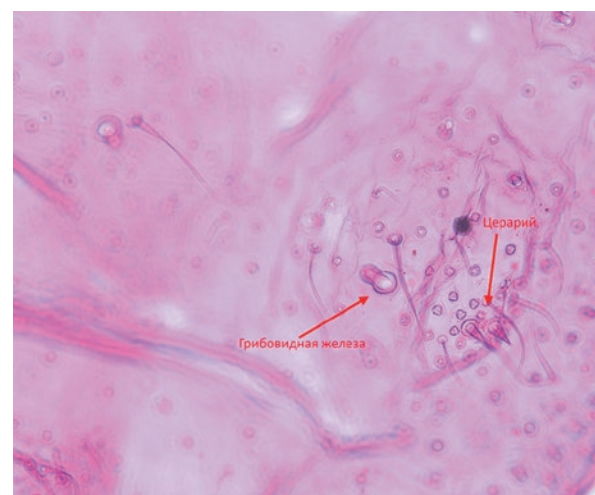


Рис. 7. Грибовидная железа в области церария (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 7. Oral-rim duct in cerarius area (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

difficult to remove. Quality of a prepared microscopic slide and the result of the study depend on how skillfully fatty tissues have been removed from the body.

Most of the slides the authors prepared according to a conventional scheme developed by the Russian coccidologists Danzig E.M. and Gavrilov-Zimin I.A. The following two modifications were added while preparing some experimental slides.

During the 3rd step – clearing body contents in 8–10% solution of NaOH or KOH, 1-2 drops of detergent, containing a surface-active agent (SAA) in order to dissolve fatty tissues were added. The result turned out to be positive. The quality of the whole mount turned out to be fine, fatty tissues were almost dissolved and easily removed which enabled to examine all the diagnostic characters of the female.

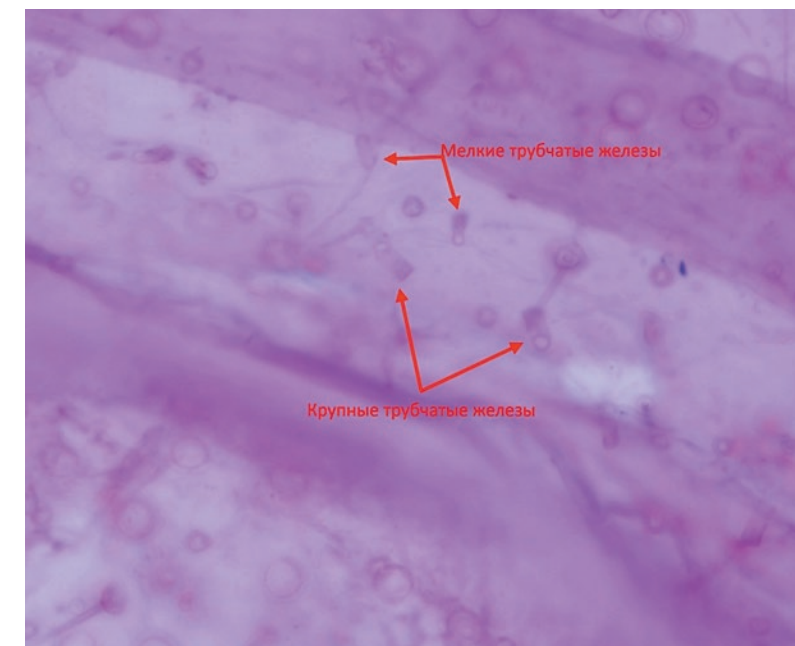


Рис. 8. Крупные и мелкие трубчатые железы с коротким узким воротничком (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 8. Large and small tubular ducts with short narrow collar (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЯ

В мировой практике идентификация мучнистых червецов чаще всего проводится на основании результатов микроскопического исследования диагностических структур тела самки. Самцы червецов очень недолговечны, поэтому определительные ключи зарубежных и российских кокцидологов построены на описании диагностических признаков самок с приведением схем строения тела и указанием основных диагностических структур [2, 3, 5, 6, 7, 8]. Мы постарались представить подробный иллюстративный материал микроскопического исследования с последовательным описанием каждой из диагностических структур, расположенных на вентральной и дорсальной поверхностях тела, и их отличительных особенностей.

Результаты микроскопического исследования основных диагностических структур дорсальной поверхности тела самки червеца Комстока

Усики

Усики самки 8-члениковые (рис. 1).

Церарии

Церарии – парные структуры, расположенные по краю тела самки червеца. У самки червеца Комстока 17 пар церариев. Церарии состоят из шипов, которые являются наружными протоками воскоотделяющих желез, и группы трехъячеистых желез, имеющих треугольную форму. У самки червеца Комстока большинство церариев с двумя шипами, головные церарии с тремя шипами (рис. 2).

During the 5th step – “staining body of a female” with “Fukortsin”, easily available antiseptic containing fuchsin. The result also turned out to be positive: staining of diagnostic structures was quick and even.

In the future studies in order to develop optimal methods of clearing and staining of microscopic slides of mealybugs will continue as laboratory studies of detected insect specimens require more time and skill to prepare quality microscopic slides and receive a valid result.

Further step of this study was to place the dorsal and ventral sides of female mealybugs on a slide in order to examine in detail the primary diagnostic structures such as number of cerarii, size and position of different types of wax ducts (Oral-rim ducts, tubular ducts, simple discoidal pores, multilocular pores), presence and absence of translucent pores on hind legs, morphology of anal cerarius and etc.

RESULTS AND DISCUSSION

According to the world's practice identification of mealybugs often requires a microscopic study of diagnostic structures of slide-mounted females. Male mealybugs cannot last long during the microscopic study, therefore foreign and Russian coccidologists' identification keys for mealybugs are based on the diagnostic characters of females including body morphology schemes and primary diagnostic structures [2, 3, 5, 6, 7, 8]. We tried to present a detailed illustrative material for a microscopic study providing a subsequent description of each diagnostic

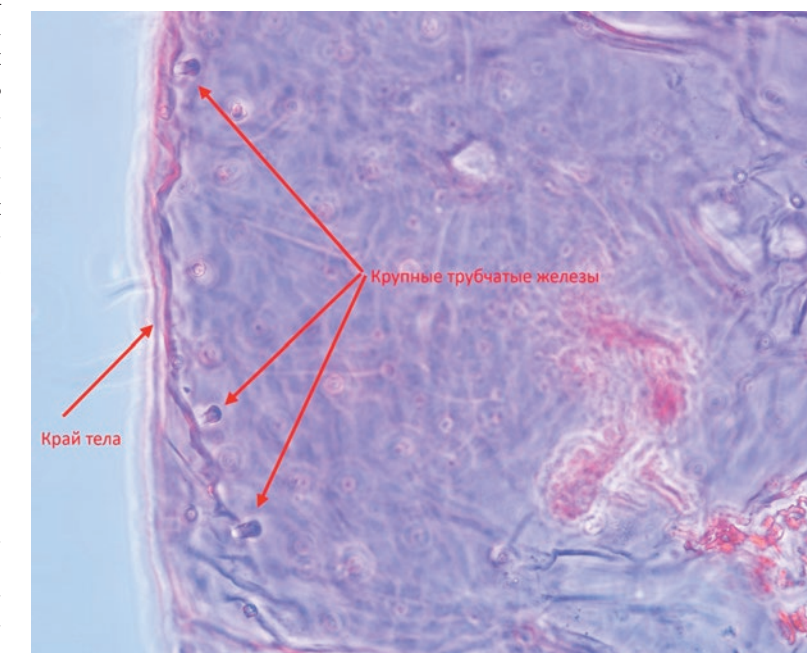


Рис. 9. Крупные трубчатые железы вдоль края тела (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 9. Large tubular ducts along body margin (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

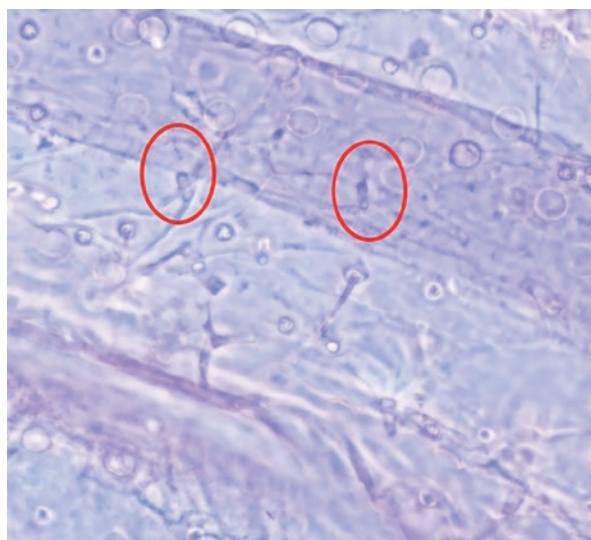


Рис. 10. Мелкие трубчатые железы на стернитах брюшка (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 10. Small tubular ducts on abdominal sternites (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

Анальный церарий

Обозначается как C18, согласно обозначениям российских кокцидологов ЗИН РАН. В его состав входят два шипа, плотная группа трехъячеистых желез, расположенных на широкой склеротизированной пластинке. Размер пластинки сходен с размером анального кольца (рис. 3).

Анальный аппарат

Анальный аппарат самки червеца Комстока полноценный. Состоит из плоского хитинового кольца, расположенного вокруг анального отверстия, одного внутреннего ряда округлых или овальных пор, одного наружного ряда микрошипикиков и шести щетинок, которые длиннее анального кольца (рис. 4).

Трубчатые железы

На дорсальной поверхности тела самки червеца Комстока имеются крупные трубчатые железы с коротким узким воротничком без ассоциированных простых пор. Железы располагаются группами вблизи церариев и единично встречаются в медиальной зоне тергитов (рис. 5).

Грибовидные железы

Червецы, входящие в группу рода *Pseudococcus*, к которой относится и червец Комстока, имеют характерные грибовидные железы. Эти железы относятся к цилиндрическим железам и входят в группу трубчатых желез с воротничками. Свое название грибовидные железы получили из-за формы воротничка, напоминающего шляпку гриба и отходящего от протока воскоотделяющей железы. У самки червеца Комстока грибовидные железы примерно одного размера и расположены единично на дорсальной

структуре located on the dorsal and ventral body surfaces, and their distinctive features.

Results of the microscopic study of primary diagnostic structures of the dorsal body surface of a female Comstock mealybug

Antennae

Antennae with 8 segments (Fig. 1).

Cerarii

Cerarii are paired structures surrounding the body margin of a female mealybug. A female Comstock mealybug has 17 pairs of cerarii. Cerarii possess setae serving as external wax ducts, and a group of triangular-shaped trilocular ducts. Most cerarii of a female Comstock mealybug have two setae, cerarii on head have three setae (Fig. 2).

Anal cerarius

Anal cerarius is indicated as C18 according to notation of the Russian coccidologists from ZIN RAN. It comprises of two setae, cluster of trilocular ducts situated on a wide sclerotized lobe similar in size to the anal ring (Fig. 3).

Anal area

The anal area of a female Comstock mealybug is complete. It consists of a flat chitinated anal ring surrounding anus with one inner row of circular or oval pores, one outer row of spinulae and six setae longer than the anal ring (Fig. 4).

Oral-collar tubular ducts

Large tubular ducts with short narrow collar without associated simple pores are present on the dorsal body surface of a female of Comstock mealybug. The ducts are found in groups near cerarii and are sparsely present in the medial zone of tergites (Fig. 5).

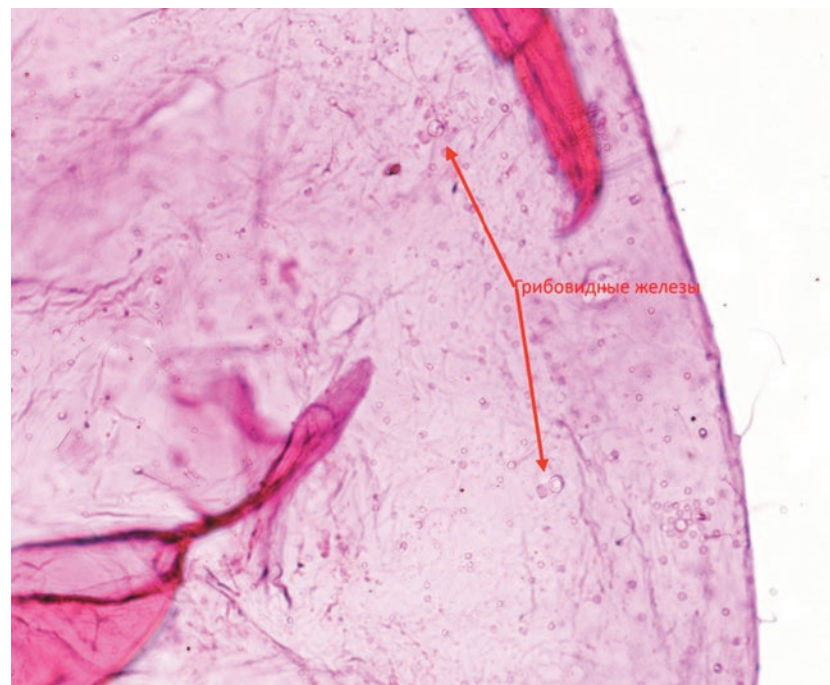


Рис. 11. Грибовидные железы на вентральной поверхности головогруды (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 11. Oral-rim ducts on ventral surface of cephalothorax (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

поверхности тела вблизи церариев и в медиальной зоне тергитов (рис. 6–7).

Результаты микроскопического исследования основных диагностических структур вентральной поверхности тела самки червеца Комстока

Трубчатые железы

Трубчатые железы с коротким узким воротничком, расположенные на вентральной поверхности тела, двух размеров: крупные и мелкие (рис. 8).

Крупные трубчатые железы с коротким узким воротничком образуют полосу вдоль края вентральной поверхности тела, единично встречаются и на стернитах брюшка (рис. 9).

Мелкие трубчатые железы с коротким узким воротничком образуют поперечные ряды и полосы на стернитах брюшка и единично встречаются в медиальной зоне головогруды (рис. 10).

Грибовидные железы

Железы примерно одного размера, сходны по размеру с грибовидными железами, расположенными на дорсальной поверхности тела самки. На вентральной поверхности тела грибовидные железы расположены вдоль края вентральной поверхности головогруды (рис. 11).

Многоячеистые железы

Самка червеца Комстока откладывает яйца в яйцевой мешок (овисак), поэтому многоячеистые железы у этого вида хорошо развиты и образуют поперечные ряды на всех стернитах брюшка и единично на стернитах головогруды. Каждая многоячеистая железа имеет одну центральную ячейку и 10 периферических ячеек (рис. 12).

Просвечивающие поры на задних конечностях самки червеца Комстока

Просвечивающие поры – дисковидные отверстия, расположенные на задних конечностях самок мучнистых червецов.

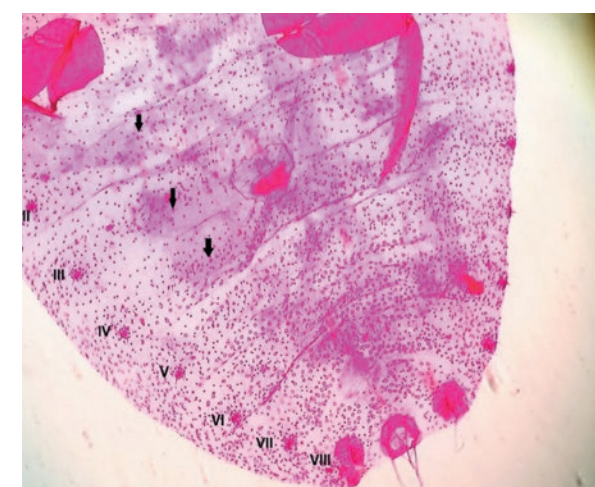


Рис. 12. Стерниты брюшка тела самки червеца Комстока с многочисленными многоячеистыми железами (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 12. Abdominal sternites of a female Comstock mealybug with numerous multilocular pores (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

Oral-rim tubular ducts

Mealybugs of the genus *Pseudococcus* to which Comstock mealybug also relates to, possess distinctive oral-rim tubular ducts. These ducts relate to the tubular ducts included in the group of collar tubular ducts. Their name originates from the shape of the collar resembling a cap of fungus extended away from the wax duct. Oral-rim tubular ducts of a female Comstock mealybug are about the same size and sparsely present on the dorsal body surface adjacent to cerarii and in the medial zone of tergites (Fig. 6–7).

Results of the microscopic study of primary diagnostic structures of the ventral body surface of a female Comstock mealybug

Oral-collar tubular ducts

Tubular ducts with short narrow collar situated on the ventral body surface of two sizes: large and small (Fig. 8).

Large tubular ducts with short narrow collar forming a marginal band along the ventral body surface, sparsely present on abdominal sternites (Fig. 9).

Small tubular ducts with short narrow collar form transverse rows and bands on abdominal sternites and sparsely present in the medial zone of cephalothorax (Fig. 10).

Oral-rim tubular ducts

The ducts are approximately the same size, similar in size to the Oral-rim ducts situated on the dorsal body surface of a female. Oral-rim ducts on the ventral body surface are situated along the margin of the ventral surface of cephalothorax (Fig. 11).

Multilocular ducts

The adult female of Comstock mealybug lays eggs in an ovisac therefore this species has very developed multilocular ducts that form transverse rows on all abdominal sternites and are sparsely present on cephalothorax sternites. Each multilocular duct has one central loculus and 10 peripheral loculi (Fig. 12).



Рис. 13. Просвечивающие поры на тазике, бедре и голени задних конечностей самки червеца Комстока (фото Н.А. Гуры, А.В. Шипулина)

Fig. 13. Translucent pores on hind coxa, femur, tibia of a female Comstock mealybug (photo by N.A. Gura, A.V. Shipulin)

Для самки червеца Комстока отличительным признаком является их наличие на тазаках задних конечностей, в отличие от близких видов, у которых просвечивающие поры отсутствуют на тазаках, а имеются только на бедрах и голенях. Просвечивающие поры у самки червеца Комстока многочисленные и присутствуют на тазике, бедре и голени задних конечностей (рис. 13).

ВЫВОДЫ

В ходе проведенного микроскопического исследования особенностей строения диагностических структур тела самки червеца Комстока, расположенных на вентральной и дорсальной поверхностях, получен иллюстративный сравнительный материал, который позволяет выявлять морфологическим методом отличительные признаки самки червеца Комстока, имеющего статус карантинного объекта.

Данная статья имеет практическое значение для сотрудников испытательных лабораторий в области карантина растений, проводящих энтомологические исследования на выявление карантинных видов мучнистых червецов, а также для специалистов в области защиты растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данциг Е.М., Гаврилов-Зимин И.А. Псевдококциды (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) Палеарктики. Часть 1. Подсемейство Pseudococcinae / Е.М. Данциг, И.А. Гаврилов-Зимин. – СПб: ЗИН РАН, 2014. – 678 с. (Фауна России и сопредельных стран. Новая серия, № 148. Насекомые хоботные).

2. Данциг Е.М., Гаврилов-Зимин И.А. Псевдококциды (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) Палеарктики. Часть 2. Подсемейство Pseudococcinae / Е.М. Данциг, И.А. Гаврилов-Зимин. – СПб: ЗИН РАН, 2015. – 619 с. (Фауна России и сопредельных стран. Новая серия, № 149. Насекомые хоботные).

3. CABI, 2020. – URL: <https://www.cabi.org/about-cabi> (дата обращения: 20.03.2020).

4. EPPO Global Database, 2020. – URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSECCO> (дата обращения: 15.04.2020).

5. Granara de Willink M.C., González P. Revisión taxonómica de *Pseudococcus* Westwood (Hemiptera: Pseudococcidae) de Centro y Sud América con descripciones de especies nuevas // *Insecta Mundi*. – 2018.

6. Moghaddam M. A review of the mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae, Putoidae and Rhizoecidae) of Iran, with descriptions of four new species and three new records for the Iranian fauna // *Zootaxa*. – 2013. – Vol. 3632, No. 1. – P. 1–107.

7. Scale Insects. – URL: <http://www.idtools.org/id/scales/index.php> (дата обращения: 20.05.2020).

8. Williams D.J., & Granara de Willink M.C. Mealybugs of Central and South America. – London, England: CAB International, 1992. – 635 p.

Translucent pores on hind legs of a female Comstock mealybug

Translucent pores are disc pores located on hind legs of mealybug females.

Presence of translucent pores on hind coxae is a distinctive feature of a female Comstock mealybug unlike closely related species that do not possess translucent pores on coxae but only on femurs and tibiae. Female Comstock mealybugs have numerous translucent pores on hind coxa, femur and tibia (Fig. 13).

CONCLUSION

Illustrative comparative material obtained from this microscopic study of the morphological characters of diagnostic structures of a female Comstock mealybug situated on the dorsal and ventral surfaces, allows, by using a morphological method, to identify distinctive features of a female Comstock mealybug that is of quarantine status.

This article has a practical importance for the staff of plant quarantine testing laboratories who carry out entomological research in order to identify quarantine species of mealybugs, as well as for the plant protection specialists.

REFERENCES

1. Danzig E.M., Gavrilov-Zimin I.A. Pseudococcidae (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) of Palearctic. Part 1. Subfamily Pseudococcinae. [Pseudokokcidy (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) Palearktiki. Chast 1. Podsemejstvo Pseudococcinae] St. Petersburg: ZIN RAN, 2014. (Fauna of Russia and neighbouring countries. New series, No. 148. Insecta: Homoptera) (In Russian).

2. Danzig E.M., Gavrilov-Zimin I.A. Pseudococcidae (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) of Palearctic. Part 2. Subfamily Pseudococcinae. [Pseudokokcidy (Homoptera: Coccinea: Pseudococcidae) Palearktiki. Chast 2. Podsemejstvo Pseudococcinae] St. Petersburg: ZIN RAN, 2015. (Fauna of Russia and neighbouring countries. New series, No. 149. Insecta: Homoptera) (In Russian).

3. CABI, 2020. URL: <https://www.cabi.org/about-cabi> (accessed date: 20.03.2020).

4. EPPO Global Database, 2020. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSECCO> (accessed date: 15.04.2020).

5. Granara de Willink M.C., González P. Revisión taxonómica de *Pseudococcus* Westwood (Hemiptera: Pseudococcidae) de Centro y Sud América con descripciones de especies nuevas. *Insecta Mundi*. 2018.

6. Moghaddam M. A review of the mealybugs (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae, Putoidae and Rhizoecidae) of Iran, with descriptions of four new species and three new records for the Iranian fauna. *Zootaxa*. 2013; 3632 (1): 1–107.

7. Scale Insects. URL: <http://www.idtools.org/id/scales/index.php> (accessed date: 20.05.2020).

8. Williams D.J., & Granara de Willink M.C. Mealybugs of Central and South America. London, England: CAB International, 1992. 635 p.

УДК 579.26.632.3.01/.08

Характеристика и распространение возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.

С.И. ПРИХОДЬКО, научный сотрудник – заведующая лабораторией бактериологии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: svetlana.prik@yandex.ru

А.Б. ЯРЕМКО, младший научный сотрудник научного отдела молекулярно-генетических методов диагностики ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: an_ya94@mail.ru

К.П. КОРНЕВ, к. б. н., заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: konstantin.kornev@gmail.com

Аннотация. В статье представлены общие сведения о происхождении, таксономии, биологии, географическом распространении и основных методах диагностики возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты – *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. Возбудитель бактериальной пятнистости включен в список вредных организмов, имеющих карантинное значение для Китая, Израиля, Египта и Мексики. На базе лаборатории бактериологии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР» были проведены исследования образцов рапса, которые получены из мест выращивания экспортных семян, предназначенных только для переработки. Мониторинг распространения вредного организма на территории РФ проводился в некоторых регионах Дальневосточного и Сибирского федеральных округов. Диагностику образцов вегетативных частей рапса осуществляли методами как классическими микробиологическими, так и молекулярно-генетическими.

Ключевые слова. Бактериальная пятнистость цветной капусты, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, экспорт, рапс, мониторинг, лабораторное исследование, микробиологический посев, секвенирование.

ВВЕДЕНИЕ

условиях развития рыночных отношений Российской Федерации с Китайской Народной Республикой в части экспорта зерновой продукции,

UDC 579.26.632.3.01/.08

Characterization and spread of bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.

S.I. PRIKHODKO, Senior Researcher, Head of the Bacteriology Laboratory of the Laboratory Testing Center of FGBU “VNIICR”, e-mail: svetlana.prik@yandex.ru

A.B. IAREMKO, Junior Researcher of the Scientific Department for Molecular Genetic Diagnostic Methods of FGBU “VNIICR”, e-mail: an_ya94@mail.ru

K.P. KORNEV, PhD in Biology, Deputy Head of FGBU “VNIICR”, e-mail: konstantin.kornev@gmail.com

Abstract. The article presents general information about the origin, taxonomy, biology, geographical distribution and the main diagnostic methods of bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. Bacterial leaf spot of cabbage is included in the list of pests of quarantine importance for China, Israel, Egypt and Mexico. The bacteriology laboratory of the Testing Laboratory Center of FGBU “VNIICR” analyzed rape samples, obtained from the places where export seeds intended only for processing are cultivated. Pest spread on the territory of Russia was monitored in some regions of the Far Eastern and Siberian Federal Districts. Samples of vegetative parts of rape were diagnosed by classical microbiological and molecular genetic techniques.

Keywords. Bacterial leaf spot of cabbage, *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*, export, rape, monitoring, laboratory testing, microbiological inoculation, sequencing.

INTRODUCTION

In the conditions of development of market relations between the Russian Federation and the People’s Republic of China in terms of export of grain products, corn, soybean, rice and rape, compliance of plant production areas with phy-

кукурузы, сои, риса и рапса огромное значение приобретает соответствие мест производства растительной продукции фитосанитарным требованиям страны-импортера.

Согласно протоколу между Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору Российской Федерации и Главным государственным управлением по контролю качества, инспекции и карантину Китайской Народной Республики, семена рапса, предназначенные для экспорта в Китай, должны быть выращены в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. В местах производства страной-экспортером проводятся мониторинги распространения вредных организмов, имеющих карантинное значение для КНР.

Одним из показателей, отсутствие которого в местах производства экспортных семян рапса регламентируется соответствующими требованиями КНР, является возбудитель бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. В этой связи исследовательские мероприятия с дальнейшей диагностикой бактериального возбудителя на этапе выращивания растительной продукции позволят выявить свободные от фитопатогена зоны производства рапса.

Целью настоящего исследования стало описание основных характеристик возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. и установление распространения фитопатогена на территории Российской Федерации в регионах производства рапса, предназначенного для экспортных целей.

В ходе проведения исследования авторами решались следующие задачи:

1. Проанализировать имеющиеся мировые литературные данные касательно сведений о происхождении, таксономии, биологии и экологии, географическом распространении в мире и основных методах диагностики возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты – *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.
2. Провести лабораторное исследование образцов вегетативных частей рапса на присутствие *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О ВОЗБУДИТЕЛЕ

Возбудитель относится к типу Proteobacteria, классу Gammaproteobacteria, семейству Pseudomonadaceae, роду *Pseudomonas* [10].

Клетки бактерии *P. s. pv. maculicola* представляют собой короткие граммотрицательные палочки с закругленными краями, подвижные лопотрихи, спор не образуют, аэробы. Размер клеток составляет 0,9 x 1,5–3,0 мкм [4, 9].

Впервые возбудитель бактериальной пятнистости был описан в 1911 г. на цветной капусте,



Рис. 1. Географическое распространение *P. s. pv. maculicola* в мире (<https://www.cabi.org/cpc/datasheet/44973>)

Fig. 1. Geographical distribution of *P. s. pv. maculicola* in the world (<https://www.cabi.org/cpc/datasheet/44973>)

tosanitary requirements of the importing country acquires great importance.

According to the protocol between the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance of the Russian Federation and the General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, rape seeds intended for export to China must be grown in the Siberian and Far Eastern Federal Districts. At the places of production, the exporting country monitors the spread of pests of quarantine importance to China.

One of the pathogens is bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. Its absence at the places of production of rape seeds is regulated by the relevant requirements of China. In this regard, survey activities with further diagnosis of the bacteria at the stage of plant production will make it possible to identify phytopathogen-free areas of rape production.

The purpose of this study was to describe the main characteristics of bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al. and to establish the spread of the phytopathogen in the regions of the Russian Federation where rape is produced for export purposes.

In the course of the study, the authors solved the following tasks:

1. Analysis of the available international literature data concerning information on origin, taxonomy, biology and ecology, world geographical spread and main diagnostic methods of bacterial leaf spot of cabbage *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (McCulloch) Young et al.
2. Laboratory testing of samples of rape vegetative parts for the presence of *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*.

GENERAL INFORMATION ABOUT THE PATHOGEN

The pathogen belongs to the Proteobacteria type, Gammaproteobacteria class, Pseudomonadaceae family, *Pseudomonas* genus [10].



Рис. 2. Симптомы бактериальной пятнистости на белокачанной капусте (<https://www.nexles.com>, 2018 г.)

Fig. 2. Symptoms of bacterial leaf spot on white cabbage (<https://www.nexles.com>, 2018)

выращенной в Вирджинии (США), и получил название *Bacterium maculicolum* (McCulloch, 1911). В 1913 г. бактерия была переименована в *Pseudomonas maculicola* (McCulloch) Stevens. В 1966 г. в Новой Зеландии с цветной капусты (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) был изолирован штамм *Pseudomonas maculicola* [15]. В настоящее время типовой штамм *P. s. pv. maculicola* хранится в мировых бактериологических коллекциях, таких как Национальная коллекция патогенных бактерий растений (Англия); Международный центр микробиологических ресурсов – Французская коллекция бактерий, ассоциированных с растениями; Международная коллекция растительных микроорганизмов (Новая Зеландия); Бельгийская коллекция микроорганизмов. В этих коллекциях указанный типовой штамм хранится под номерами NCPPB 2039, CFBP 1657, ICMP 3935, LMG 5071.

В 1978 г. Young et al. установили, что возбудитель бактериальной пятнистости является патоваром *maculicola* вида *Pseudomonas syringae*. Позднее, в 2015 г., расшифрован полный геном штамма и подтверждена его таксономическая принадлежность [7].

Бактерия распространена во многих странах (рис. 1), возделывающих культурные растения семейства Brassicaceae, в том числе на территории бывшего СССР [5].

В Японии симптомы бактериальной пятнистости впервые были выявлены в 1931 г. на пекинской капусте, а в 1932 г. они были обнаружены на дайконе, выращенном на острове Тайвань [15]. В 1992 г. опубликовано первое упоминание о присутствии возбудителя бактериальной пятнистости в Аргентине на брюссельской капусте [6]. В 2004 г. *P. s. pv. maculicola* вызвала вспышку бактериальной пятнистости на цветной капусте в Австралии [13]. Возбудитель широко распространен на территории США. Так, в 90-х годах XX века в Оклахоме

Cells of the bacterium *P. s. pv. maculicola* are short gram-negative rods with rounded edges, mobile lophotrichs. They do not form spores and are aerobes. Cell size is 0.9 x 1.5–3.0 μm [4, 9].

The pathogen of bacterial leaf spot of cabbage was first described in 1911 on cauliflower grown in Virginia (USA) and was called *Bacterium maculicolum* (McCulloch, 1911). In 1913, the bacterium was renamed *Pseudomonas maculicola* (McCulloch) Stevens. In 1966 in New Zealand the strain *Pseudomonas maculicola* (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) was isolated from cauliflower [15]. At present, a typical strain of *P. s. pv. maculicola* is stored in world bacteriological collections, such as the National Collection of Plant Pathogenic Bacteria (England); International Centre for Microbiological Resources – French collection of plant associated bacteria; International Collection of Microorganisms from Plants (New Zealand); and Belgian Coordinated Collections of Microorganisms. In these collections, the specified standard strain is stored under numbers NCPPB 2039, CFBP 1657, ICMP 3935, LMG 5071.

In 1978, Young et al. established that bacterial leaf spot of cabbage is the pathovar *maculicola* of the species *Pseudomonas syringae*. Later, in 2015, the complete genome of the strain was sequenced and its taxonomic identity was confirmed [7].

The bacterium is widespread in many countries (Fig. 1) that cultivate plants of the Brassicaceae family, including the former USSR territory [5].

In Japan, symptoms of bacterial leaf spot of cabbage were first detected in 1931 on Chinese cabbage, and in 1932 they were found on a daikon grown on the island of Taiwan [15]. In 1992, the presence of bacterial leaf spot of cabbage in Argentina on Brussels sprouts was first recorded [6]. In 2004 *P. s. pv. maculicola* caused an outbreak of bacterial leaf spot of cabbage in Australia [13].

The pathogen is widely spread in the USA. Thus, in the 1990s in Oklahoma, bacterial leaf spot of cabbage caused significant damage to such cultures as cabbage, spinach, mustard and turnip [16]. There are also data on outbreaks of bacterial leaf spot of cabbage on cruciferous plants in France [11].

Bacterial leaf spot of cabbage affects Brassicaceae plants, such as Chinese mustard (*Brassica juncea* var. *juncea*), cauliflower (*B. oleracea* var. *botrytis*), Brussels sprouts (*B. oleracea* var. *gemmifera*), asparagus broccoli (*B. oleracea* var. *italica*), Chinese cabbage (*B. rapa* subsp. *pekinensis*), garden radish (*Raphanus sativus*), black mustard (*Brassica nigra*), cabbage (*B. oleracea* var. *capitata*), kohlrabi (*B. oleracea* var. *gongylodes*), borecole (*B. oleracea* var. *viridis*), forage turnip (*B. rapa* subsp. *rapa*), rape (*B. Napus*), and others. But cauliflower, white and red cabbage are the most damaged plants [4, 9, 17].

At present, diagnostic methods of bacterial leaf spot of cabbage are limited to isolation on the nutrient medium with subsequent identification of isolates by biochemical methods [2]. However, even when isolating the bacterium on the nutrient medium, it is possible to identify the culture only to the species *Pseudomonas syringae* sp. [14]. Molecular techniques are limited to the identification of the genus *Pseudomonas* sp. The *maculicola* pathovar is heterogeneous and has similarity both

бактериальная пятнистость нанесла значительный ущерб таким культурам, как капуста, шпинат, горчица и репа [16]. Также есть данные о вспышках бактериальной пятнистости на крестоцветных во Франции [11].

Бактериальная пятнистость цветной капусты поражает растения семейства Brassicaceae, такие как горчица сарептская (*Brassica juncea* var. *juncea*), цветная капуста (*B. oleracea* var. *botrytis*), брюссельская капуста (*B. oleracea* var. *gemmifera*), брокколи (*B. oleracea* var. *italica*), пекинская капуста (*B. rapa* subsp. *pekinensis*), редька (*Raphanus sativus*), горчица черная (*Brassica nigra*), кочанная капуста (*B. oleracea* var. *capitata*), кольраби (*B. oleracea* var. *gongylodes*), листовая капуста (*B. oleracea* var. *viridis*), репа (*B. rapa* subsp. *rapa*), рапс (*B. napus*) и другие. Но больше всего повреждается цветная, бело- и краснокочанная капуста [4, 9, 17].

В настоящее время методы диагностики возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты ограничиваются изоляцией на питательную среду с последующей идентификацией изолятов биохимическими методами [2]. Но даже при выделении бактерии на питательной среде, можно идентифицировать культуру только до вида *Pseudomonas syringae* sp. [14]. Молекулярные же методы ограничиваются определением рода *Pseudomonas* sp. Патовар *maculicola* является гетерогенным и имеет сходство как в патогенезе, так и генетически с другими патоварами *P. syringae* [15, 17]. Поэтому важной задачей является разработка методов, позволяющих идентифицировать *P. s. pv. maculicola*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований являлись вегетативные части рапса *Brassica napus* L.

Образцы рапса получали из следующих регионов РФ: Республики Хакасия, Красноярского края, Алтайского края, Забайкальского края, Кемеровской, Томской, Омской, Иркутской и Новосибирской областей.

Поступившие в лабораторию образцы осматривали на наличие симптомов бактериальной пятнистости. Затем фрагменты растительной ткани помещали в контейнер с фосфатным буфером и встряхивали при 200 об/мин в течение 90 мин. Мацерат фильтровали через обеззоленный фильтр и концентрировали при 8000 об/мин. Полученный концентрат ресуспендировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера.

Растительный экстракт использовали для посева на среду Кинга Б [14, 16].

Колонии с характерными культуральными признаками *Pseudomonas syringae* отбирали для выделения нуклеиновых кислот методом кипячения (нагревания при температуре 96 °C в течение 10 мин с последующим охлаждением).

Суспензию нуклеиновых кислот использовали для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) в соответствии с Kazempour et al., 2010 [12] с праймерами PSF/PSR. Для постановки реакции применяли готовую смесь для ПЦР 5x ScreenMix («Евроген», Россия).

Амплификацию проводили на термоциклере модели T100 (Bio-Rad, США) с последующей визуализацией результатов ПЦР методом горизонтального электрофореза в 1,5%-м трисборатном

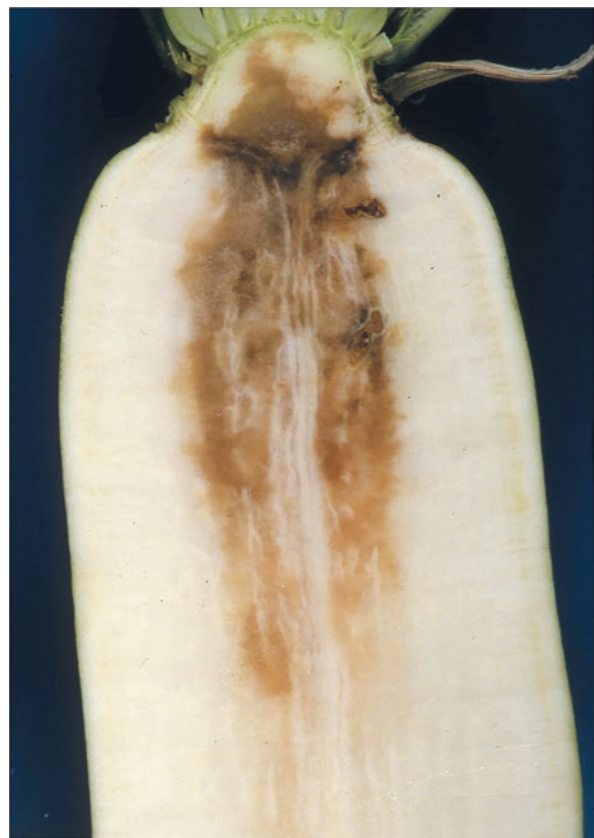


Рис. 3. Гниль японской редьки (дайкона) *Raphanus sativus* var. *longipinnatus*, вызванная *P. s. pv. maculicola*, группа II (Y. Takikawa, F. Takahashi, 2014 [15])

Fig. 3. Rot of Chinese radish (daikon) *Raphanus sativus* var. *longipinnatus* caused by *P. s. pv. maculicola*, group II (Y. Takikawa, F. Takahashi, 2014 [15])

in pathogenetically and genetically with other *P. syringae* pathovars [15, 17]. It is therefore important to develop methods to identify *P. s. pv. maculicola*.

MATERIALS AND METHODS

The object of research was vegetative parts of rape *Brassica napus* L.

Rape samples were obtained from the following regions of the Russian Federation: Republic of Khakassia, Krasnoyarsk Krai, Altai Krai, Transbaikal Krai, Kemerovo, Tomsk, Omsk, Irkutsk and Novosibirsk Oblast.

Samples submitted to the laboratory were examined for symptoms of bacterial leaf spot of cabbage. Then fragments of plant tissue were placed in a container with a phosphate buffer and shaken at 200 rpm for 90 min. Macerate was filtered through an ash filter and concentrated at 8000 rpm. The obtained concentrate was resuspended in 1 ml of phosphate-salt buffer.

The plant extract was used for inoculation on King B medium [14, 16].

Colonies with characteristic cultural features of *Pseudomonas syringae* were selected for the extraction of nucleic acids by boiling (heating at 96 °C for 10 min with subsequent cooling).

The nucleic acid suspension was used for polymerase chain reaction (PCR) according to Kazempour

агарозном геле, окрашенном 1%-м раствором бромистого этидия. Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли на гелъдокументирующей системе Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США).

В случае получения ПЦР-продуктов определяли их нуклеотидную последовательность методом секвенирования на генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems™, США). Выравнивание и редактирование последовательностей вручную проводили с помощью программы CodonCode Aligner v.7.0 (Green, 2017), проверку и сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с последовательностями базы данных GenBank выполняли с помощью программы NCBI BLAST [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

При проведении обследования мест производства рапса особое внимание уделяли наличию симптомов на вегетирующих растениях.

В полевых условиях симптомы заболевания проявляются на листьях растений на начальном этапе в виде небольших водянистых пятен – угловатых или округлых. Впоследствии пятна сливаются в более крупные вытянутые пятна темно-коричневого или фиолетового цвета, окруженные хлоротичным ореолом (рис. 2). Размер пятен может достигать от 3 до 7 мм. Особенно отчетливо симптомы пятнистости проявляются на нижней стороне листа. Такие повреждения искажают форму листа и придают ему морщинистый, шероховатый вид. При сильном повреждении листья усыхают и опадают, а всходы растений могут погибнуть. Если всходы выживают, в дальнейшем такие растения сильно отстают в росте и не образуют семян [1, 3, 4].

Бактериоз поражает как вегетативные, так и генеративные части растения. На соцветиях цветной капусты пятнистость носит поверхностный характер, но с течением заболевания инфекция проникает в глубь тканей, приводя к их разрушению. Цвет пятен варьирует от коричневых до серовато-коричневых. Пораженные головки быстро гниют в результате проникновения вторичной сапрофитной микрофиты [4, 5].

При поражении цветоносов наблюдаются черно-бурые пятна неопределенной формы, что впоследствии приводит к значительному снижению качества семян. Снаружи и внутри створок стручков зараженных растений также образуются черные пятна, имеющие блестящую поверхность. Бактериальная инфекция переходит со стручков на семена, которые позднее становятся черными [4, 5].

Также бактерия может вызывать симптомы гнили корнеплодов на редьке, дайконе и других растениях семейства Brassicaceae (рис. 3).

et al., 2010 [12] with PSF/PSR primers. The ready mixture for PCR 5x ScreenMix (Evrogen, Russia) was used for reaction.

Amplification was carried out on a thermal cycler of model T100 (Bio-Rad, USA) with subsequent visualization of PCR results by horizontal electrophoresis in 1.5% trisborate agarose gel painted with 1% ethidium bromide solution. Visualization of PCR products was carried out on gel-documenting system Gel Doc XR+ (Bio-Rad, USA).

If PCR products were obtained, their nucleotide sequence was determined by sequencing on the 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems™, USA). Sequences were manually aligned and edited using CodonCode Aligner v.7.0 (Green, 2017); the verification and comparison of the obtained nucleotide sequences with the sequences in the GenBank database was performed using NCBI BLAST [8].

RESULTS AND DISCUSSIONS

When surveying rape production sites, special attention was paid to the presence of symptoms on vegetative plants.

In the field, symptoms appear on plant leaves at first in the form of small angular or rounded watery spots. Subsequently, the spots merge into larger elongated spots of dark brown or purple color, surrounded

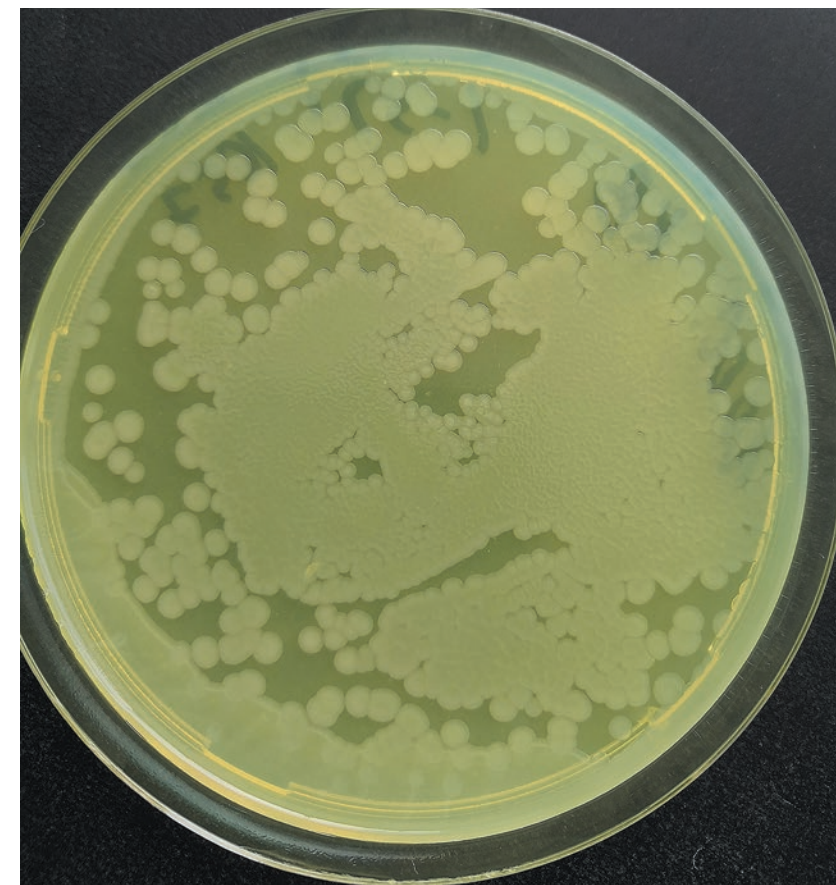


Рис. 4. Культура *P. s. pv. maculicola* (штамм CFBP 1657) на среде Кинга Б через 72 ч (фото А.Б. Яремко)

Fig. 4. Culture of *P. s. pv. maculicola* (strain CFBP 1657) on King B medium after 72 hours (photo by A.B. Iaremko)



Рис. 5. Культура *P. s. pv. maculicola* на безглюкозном пептонно-дрожжевом агаре через 48 ч (фото А.Б. Яремко)

Fig. 5. Culture of *P. s. pv. maculicola* glucose-free pepton-yeast agar after 48 hours (photo by A.B. Iaremkov)

Распространению заболевания способствует влажная, прохладная погода, заморозки. Таким образом, бактерии в течение вегетационного сезона передаются от растения к растению через дождевую и поливную воду. Бактерии длительное время, как минимум год, способны сохраняться в почве и растительных остатках, откуда фитопатоген проникает в здоровые растения через устьица, механические повреждения, вызывая новую вспышку заболевания [1, 3, 4].

Есть данные о переносе инфекции с насекомыми и сорными растениями семейства Крестоцветные. Поэтому профилактика бактериоза должна представлять комплекс мер, включая борьбу с насекомыми и сорняками, а также использование здорового посадочного материала, обработку семян и применение устойчивых сортов. Основным путем распространения на большие расстояния являются зараженные семена и рассада [1, 3].

В ходе мониторинга распространения на территории РФ вредных организмов, имеющих карантинное значение для Китая, лабораторией бактериологии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР» в 2019 г. были проанализированы 250 образцов вегетативных частей рапса.

P. s. pv. maculicola на среде Кинга Б образовывала диффузный флуоресцирующий пигмент (рис. 4), служивший диагностическим признаком при анализе микробиологического посева.

В результате анализа генетических последовательностей большинство изолированных штаммов были отнесены к видам *Pseudomonas fluorescens* и *P. putida*. В ходе исследований образцов экспортного рапса не было выявлено представителей вида *Pseudomonas syringae*.

by a chlorotic halo (Fig. 2). The size of the spots can reach from 3 to 7 mm. The symptoms of spotting are particularly pronounced on the underside of the leaf. Such damage distorts the shape of the leaf and give it a wrinkled, roughish look. If the damage is severe, the leaves die back and fall off, and the young plants may die. If the seedlings survive, the plants lag far behind in growth and do not form seeds [1, 3, 4].

Both vegetative and generative parts of the plant are affected by bacteriosis. At first the spotting is located on the surface of cauliflower inflorescences, but as the disease progresses infection penetrates deep into tissues, leading to their destruction. The color of the spots varies from brown to grayish-brown. Affected capitates rot quickly as a result of secondary saprophyte microbiota penetration [4, 5].

Black and brown spots of undefined shape are observed in the affected pedicels, which subsequently lead to a significant decrease in seed quality. Black spots

with shiny surface are also formed outside and inside the pods of infected plants. Bacterial infection passes from pods to seeds, which later become black [4, 5].

The bacteria may also cause symptoms of root rot on radish, daikon and other Brassicaceae plants (Figure 3).

Wet, cool weather and frost contribute to the spread of the disease. During the growing season, bacteria are transmitted from plant to plant through rainwater and irrigation. Bacteria are able to persist for at least a year in soil and plant residues, from where the phytopathogen penetrates into healthy plants through stomata, mechanical lesions, causing a new outbreak of disease [1, 3, 4].

There are data on the transfer of infection with insects and weeds of the cruciferous plants. Therefore, bacteriosis should be prevented by a set of measures, including insect and weed control, as well as the use of healthy propagative material, seed treatment, resistant varieties. Contaminated seeds and seedlings are the main means of long-range spread [1, 3].

In the course of monitoring the spread of pests of quarantine importance to China on the territory of the Russian Federation, 250 samples of rape vegetative parts were analyzed by the bacteriology laboratory of the Laboratory Testing Center of FGBU "VNIICR" in 2019.

P. s. pv. maculicola formed on King B medium a diffuse fluorescent pigment (Fig. 4), which served as a diagnostic feature in the analysis of microbiological inoculation.

Согласно исследованиям японских ученых [15], различные изоляты *P. s. pv. maculicola* были разделены на 4 группы по культуральным признакам и симптоматике на растениях-хозяевах. Группы III и IV образовывали непрозрачные, слизистые, выпуклые с ровным краем колонии на чашках с безглюкозным пептонно-дрожжевым агаром (рис. 5), а изоляты групп I и II образовывали прозрачные выпуклые колонии на этой среде. Колонии группы IV впоследствии становились крупнее (на 2–3 мм), чем колонии группы III, через 3 дня при 28 °C. Впоследствии к группе I было отнесено большинство изолятов из мировых коллекций, в том числе новозеландский типовой изолят с цветной капусты и 1 изолят с цветной капусты из Японии. В группу II вошли изоляты, полученные с дайкона и вызывавшие мелкую пятнистость листьев и гниль корня, также британский изолят с горчицы. В группу III вошли изоляты с пекинской капусты, репы, бок-чоя (*Brassica rapa* subsp. *chinensis*) и цветной капусты из Японии. В группу IV вошли изоляты с дайкона из Японии, вызывавшие крупные некрозы, и с редиса из США. Впоследствии группа IV была отнесена к *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis*.

Таким образом, для диагностики возбудителя требуется комплексный подход в связи с высоким культурально-морфологическим и генетическим сходством патоваров внутри вида *Pseudomonas syringae*, а также возможностью поражения растений-хозяев другими фитопатогенами со сходной симптоматикой течения инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ранее в России бактериальные болезни рапса были изучены в недостаточной степени. При этом исследования, заключающиеся в определении культурально-морфологических, биохимических свойств, являются актуальными методами лабораторных исследований возбудителя бактериальной пятнистости цветной капусты. Поэтому диагностика *P. s. pv. maculicola* представляет собой комплекс методов, включающих обязательное выделение чистой культуры патогена и работу с симптомным материалом.

Анализ существующих данных показал необходимость разработки и совершенствования методов диагностики, позволяющих достоверно выявить и идентифицировать бактерию *P. s. pv. maculicola* для своевременного обнаружения заболевания в растительном материале и семенах рапса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Габор Б., Као Дж., Краузе Д. Руководство по болезням крестоцветных. Практическое пособие для семеноводов, овощеводов и консультантов по сельскому хозяйству. – Semin, 2013. – 50 с.
2. Матвеева Е.В., Игнатов А.Н., Политыко В.А., Фокина В.Г. Бактериальные болезни рапса // Защита и карантин растений. – 2008. – С. 23–24.
3. Стандарт ЕОКЗР PP 2/7 (1) Guidelines on good plant protection practice. Vegetable brassicas // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. – 1996. – No. 26. – P. 311–347.
4. Станчева Й. Атлас болезней сельскохозяйственных культур I. Болезни овощных культур. – София – Москва: Пенсофт, 2005. – 181 с.
5. AgroAtlas, 2020. – URL: <http://www.agroAtlas.ru> (дата обращения: 06.06.2020).

As a result of genetic sequence analysis, most isolated strains were attributed to *Pseudomonas fluorescens* and *P. putida*. No representatives of the species *Pseudomonas syringae* were identified in the studies of export rape samples.

According to studies by Japanese researchers [15], various isolates of *P. s. pv. maculicola* were divided into 4 groups according to cultural features and symptomatology on host plants. Groups III and IV formed opaque, mucous, convex colonies in dishes with glucose-free pepton-yeast agar (Fig. 5), and isolates of groups I and II formed transparent convex colonies on this medium. Colonies of group IV later became larger (by 2–3 mm) than colonies of group III, after 3 days at 28 °C. Subsequently, most of the isolates from the world collections were assigned to group I, including New Zealand colonies of cauliflower and 1 colony of cauliflower from Japan. Group II included isolates derived from daikon that caused fine small leaf spotting and root rot, and British mustard isolate. Group III included isolates from Beijing cabbage, turnips, bok choy (*Brassica rapa* subsp. *chinensis*) and cauliflower from Japan. Group IV included isolates from Japanese daikon, which caused large necrosis, and from radish from the United States. Group IV was subsequently assigned to *Pseudomonas cannabina* pv. *alisalensis*.

Thus, to diagnose the pathogen a comprehensive approach is required due to the high cultural, morphological and genetic similarity of the pathovars within the species *Pseudomonas syringae*, as well as the possibility of the host plants to be affected by other phytopathogens with similar symptoms of the infection course.

CONCLUSION

Previously, bacterial diseases of rape were insufficiently studied in Russia. At the same time, the studies, which determine cultural, morphological and biochemical properties, are actual methods of laboratory tests of bacterial leaf spot of cabbage. That is why diagnosis of *P. s. pv. maculicola* is a complex of methods that includes the required isolation of the pure culture of the pathogen and the handling of the symptomatic material.

The analysis of existing data has shown the need to develop and improve diagnostic methods to reliably detect and identify the bacteria *P. s. pv. maculicola* for timely detection of the disease in plant material and rape seeds.

REFERENCES

1. Gabor B., Kao J., Krauze D. Crucifer Disease Guide. A practical guide for seed growers, vegetable growers and agricultural consultants. Semin, 2013. 50 p. (in Russian).
2. Matveeva E.V., Ignatov A.N., Polityko V.A., Fokina V.G. Rape bacterial diseases [Bakterialnye bolezni rapsa]. *Plant Health and Quarantine*. 2008; 23–24 (in Russian).
3. EPPO Standard PP 2/7 (1) Guidelines on good plant protection practice. Vegetable brassicas. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 1996; 26: 311–347.

6. Alippi A.M., Ronco L. First Report of Crucifer Bacterial Leaf Spot Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* in Argentina // Plant Disease. – 1996. – Vol. 80. – P. 223.
7. Bartoli C., Carrere S., Lamichhane J.R., Varvaro L., Morris C.E. Whole-Genome Sequencing of 10 *Pseudomonas syringae* Strains Representing Different Host Range Spectra // Genome Announcements. – 2015. – Vol. 3, No. 2. – P. 1–3.
8. Basic local alignment search tool / NCBI. – URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 06.06.2020).
9. CABI, 2020. – URL: <https://www.cabi.org> (дата обращения: 06.06.2020).
10. EPPO Global Database, 2020. – URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMMC> (дата обращения: 06.06.2020).
11. Gironde S., Manceau C. Housekeeping Gene Sequencing and Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis To Identify Subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* That Correlate with Host Specificity // Applied and Environmental Microbiology. – 2012. – Vol. 78, No. 9. – P. 3266–3279.
12. Kazempour M.N., Kheyrghoo M., Pedramfar H., Rahimian H. Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9, No. 20. – P. 2860–2865.
13. Peters B.J., Ash G.J., Cother E.J., Hailstones D.L., Noble D.H., Urwin N.A.R. *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* in Australia: pathogenic, phenotypic and genetic diversity // Plant Pathology. – 2004. – Vol. 53. – P. 73–79.
14. Shaad N.W., Jones J.B., Chun W. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (3rd edition). – APS Press, 2001. – 373 p.
15. Takikawa Y., Takahashi F. Bacterial leaf spot and blight of crucifer plants (Brassicaceae) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *P. cannabina* pv. *Alisalensis* // J Gen Plant Pathol. – 2014. – Vol. 80. – P. 466–474.
16. Zhao Y., Damicone J.P., Demezas D.H., Rangaswamy V., Bender C.L. Bacterial Leaf Spot of Leafy Crucifers in Oklahoma Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* // Plant Disease. – 2000. – Vol. 84, No. 9. – P. 1015–1020.
17. Zhao Y., Damicone J.P., Bender C.L. Detection, Survival, and Sources of Inoculum for Bacterial Diseases of Leafy Crucifers in Oklahoma // Plant Disease. – 2002. – Vol. 86, No. 8. – P. 883–888.

4. Stancheva Y. Atlas of crop diseases I. Diseases of vegetable crops. Sofia – Moscow: Pensoft, 2005. 181 p. (in Russian).
5. AgroAtlas, 2020. URL: <http://www.agroAtlas.ru> (accessed date: 06.06.2020).
6. Alippi A.M., Ronco L. First Report of Crucifer Bacterial Leaf Spot Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* in Argentina. *Plant Disease*. 1996; 80: 223.
7. Bartoli C., Carrere S., Lamichhane J.R., Varvaro L., Morris C.E. Whole-Genome Sequencing of 10 *Pseudomonas syringae* Strains Representing Different Host Range Spectra. *Genome Announcements*. 2015; 3 (2): 1–3.
8. Basic local alignment search tool. NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed date: 06.06.2020).
9. CABI, 2020. URL: <https://www.cabi.org> (accessed date: 06.06.2020).
10. EPPO Global Database, 2020. URL: <https://gd.eppo.int/taxon/PSDMMC> (accessed date: 06.06.2020).
11. Gironde S., Manceau C. Housekeeping Gene Sequencing and Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis To Identify Subpopulations within *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* That Correlate with Host Specificity. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78 (9): 3266–3279.
12. Kazempour M.N., Kheyrghoo M., Pedramfar H., Rahimian H. Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. *African Journal of Biotechnology*. 2010; 9 (20): 2860–2865.
13. Peters B.J., Ash G.J., Cother E.J., Hailstones D.L., Noble D.H., Urwin N.A.R. *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* in Australia: pathogenic, phenotypic and genetic diversity. *Plant Pathology*. 2004; 53: 73–79.
14. Shaad N.W., Jones J.B., Chun W. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria (3rd edition). APS Press, 2001. 373 p.
15. Takikawa Y., Takahashi F. Bacterial leaf spot and blight of crucifer plants (Brassicaceae) caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* and *P. cannabina* pv. *Alisalensis*. *J Gen Plant Pathol*. 2014; 80: 466–474.
16. Zhao Y., Damicone J.P., Demezas D.H., Rangaswamy V., Bender C.L. Bacterial Leaf Spot of Leafy Crucifers in Oklahoma Caused by *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*. *Plant Disease*. 2000; 84 (9): 1015–1020.
17. Zhao Y., Damicone J.P., Bender C.L. Detection, Survival, and Sources of Inoculum for Bacterial Diseases of Leafy Crucifers in Oklahoma. *Plant Disease*. 2002; 86 (8): 883–888.

Применение метода полимеразной цепной реакции для идентификации преимагинальных стадий *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)

Е.В. КОЛЕСНИКОВА, заведующая лабораторией энтомологии Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: katuxa-v@mail.ru

Г.Н. БОНДАРЕНКО, к. б. н., старший научный сотрудник, начальник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКР», старший преподаватель Аграрно-технологического института ФГАОВ «Российский университет дружбы народов», e-mail: reseachergm@mail.ru

Аннотация. В процессе работы была изучена возможность применения метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) определенных участков гена COI для идентификации азиатской ягодной дрозофилы *Drosophila suzukii* на преимагинальных стадиях развития и возможность применения изучаемых тестов для лабораторной диагностики. В статье приведены оригинальные данные (нуклеотидные последовательности) для идентификации целевого объекта методом ПЦР и их последующего использования в подборе видоспецифичных генетических маркеров.

Ключевые слова. Азиатская ягодная дрозофила *Drosophila suzukii*, видовая идентификация, ПЦР, ген COI, карантин растений.



ВВЕДЕНИЕ

последние годы значительно увеличился импорт плодово-ягодной продукции на территорию Российской Федерации. По данным Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (статистика поступающей продукции в испытательные лаборатории страны согласно информационной системе «Аргус-Фито»), только за 2018–2019 гг. на территорию России импортировали около 2 млрд т плодовой и ягодной продукции на сумму более 3 млрд долларов США из стран распростра-

Application of polymerase chain reaction method for identification of preimaginal stages of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)

E.V. KOLESNIKOVA, Head of the Entomology Laboratory of the Laboratory Testing Center of FGBU “VNIKR”, e-mail: katuxa-v@mail.ru

G.N. BONDARENKO, PhD in Biology, Senior Researcher, Head of the Laboratory Testing Center of FGBU “VNIKR”, Senior Lecturer of the Agrarian and Technological Institute of FGAOU VO “Peoples’ Friendship University of Russia” (RUDN University), e-mail: reseachergm@mail.ru

Abstract. In the process of work, the possibility of application of polymerase chain reaction (PCR) of certain COI gene fragments for identification of preimaginal developmental stages of spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii* and possibility of application of these methods for laboratory diagnostics were studied. The article presents original data (base sequences) for identification of the target object by PCR method as well as further use for selection of species-specific genetic markers.

Keywords. The spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii*, species-level identification, PCR, COI gene, plant quarantine.

INTRODUCTION

In recent years, the import of fruit products into the Russian Federation has increased significantly. According to the data of Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (statistics on products incoming to the testing laboratories of the country, according to the Argus-Phyto information system) in 2018–2019 only,

нения *Drosophila suzukii*. При таком потоке продукции есть большой риск инвазии *Drosophila suzukii* в Российской Федерации.

Ежедневно при фитосанитарном досмотре и лабораторном исследовании подкарантинной продукции выявляют как карантинные, так и не-карантинные виды плодовых мушек семейства Drosophilidae.

За 2018–2019 гг. при фитосанитарном и лабораторном исследовании в плодово-ягодной и плодовоовощной продукции были выявлены такие виды плодовых мушек, относящихся к семейству Drosophilidae, как *Zaprionus tuberculatus*¹ Malloch, 1932, африканская фиговая муха *Zaprionus indianus* Gupta, 1970, дрозофила обыкновенная *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830, дрозофила похожая *Drosophila simulans* Sturtevant, 1919, азиатская ягодная дрозофила *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931). Если первые 4 не являются карантинными вредителями, то азиатская ягодная дрозофила *Drosophila suzukii* относится к числу карантинных объектов, отсутствующих на территории Евразийского экономического союза.

Drosophila suzukii – полифаг, повреждает растения из 15 семейств, особенно из родов *Vaccinium* (вакциниум), *Rubus* (малина), *Prunus* (слива), *Fragaria* (земляника), *Vitis* (виноград), *Ficus* (фикус), *Actinidia* (актинидия), *Rhamnus* (крушина), *Lonicera* (жимо-лость), *Sambucus* (бузина) и многих других (Kanzawa, 1939) [6].

Обычно целевые виды семейства Drosophilidae заселяют механически поврежденные, гниющие плоды; *Drosophila suzukii*, в отличие от таких видов, способна заселять свежие, неповрежденные плоды. Кроме того, самки *Drosophila suzukii* откладывают яйца в созревающие плоды. Вылупляющиеся из яиц личинки питаются внутри плода, вызывая размягчение тканей. На зараженных плодах проявляются вначале небольшие рубцы, оставленные яйцекладом самки, а затем мягкие вдавленные пятна, что в дальнейшем приводит к резкому снижению качества продукции [3].

При карантинном фитосанитарном обследовании и лабораторном исследовании подкарантинной продукции чаще выявляют преимагинальные стадии развития (личинки, пупарии). В настоящее время *Drosophila suzukii* можно идентифицировать только по морфологическим признакам взрослых особей. Ключей и диагностических признаков по преимагинальным стадиям не разработано [3]. В случае выявления преимагинальных стадий для достоверной идентификации необходимо дорастить обнаруженный объект до состояния имаго (для такого дорастивания требуется в среднем от 5 до 10 дней), что приводит к задержке продукции на фитосанитарных контрольных постах и вследствие – порче и потере товарных качеств партий плодовой и ягодной продукции.

Для быстрой и достоверной идентификации *Drosophila suzukii* среди некарантинных видов плодовых мушек, которые встречаются при карантинном фитосанитарном обследовании импортируемой продукции на ранних стадиях развития (личинки, пупарии), необходимо разработать комплекс молекулярно-генетических методов

about 2 billion tons of fruit products worth over 3 billion dollars were imported into the territory of Russia from the countries where *Drosophila suzukii* is present. With such a flow of products there is a great risk of invasion of *Drosophila suzukii* into the Russian Federation.

Every day during phytosanitary inspection and laboratory tests of regulated products, both quarantine and non-quarantine species of fruit flies of family Drosophilidae are detected.

In 2018 and 2019, during phytosanitary and laboratory tests, species of fruit flies of the family Drosophilidae, such as *Zaprionus tuberculatus* Malloch, 1932, African fig fly *Zaprionus indianus* Gupta, 1970, common fruit fly *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830, *Drosophila simulans* Sturtevant, 1919 and spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931), were detected in fruit and vegetable products. While the first four species are not quarantine pests, the spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii* is one of the quarantine objects absent on the territory of the Eurasian Economic Union.

Drosophila suzukii is a polyphage that damages plants from 15 families, especially from genera *Vaccinium*, *Rubus* (raspberry), *Prunus* (plum), *Fragaria* (strawberry), *Vitis* (grape vine), *Ficus* (fig), *Actinidia*, *Rhamnus* (bearwood), *Lonicera* (honeysuckle), *Sambucus* (elder) and many others (Kanzawa, 1939) [6].

Target species of Drosophilidae family usually inhabit mechanically damaged, rotting fruits; *Drosophila suzukii*, unlike these species, is able to inhabit fresh, undamaged fruits. In addition, females of *Drosophila suzukii* lay eggs in ripening fruits. The larvae hatching from the eggs feed inside the fetus, causing tissue softening. Infected fruits first show small scars left by female's ovipositor, and then soft indented spots, which later leads to a sharp decline in the quality of the product [3].

Quarantine phytosanitary inspection and laboratory tests of regulated products more often reveal preimaginal developmental stages of (larvae, puparia). At present, *Drosophila suzukii* can only be identified by morphological features of adults. No keys or diagnostic features have been developed for the preimaginal stages [3]. In case of detection of preimaginal stages, for reliable identification it is necessary to grow the detected object to the state of imago (it takes on average 5 to 10 days for such completion of growing), which leads to production delay at phytosanitary border control posts and consequently – spoilage and loss of commercial qualities of lots of fruit products.

For quick and reliable identification of *Drosophila suzukii* among non-quarantine fruit fly species, which occur during quarantine phytosanitary inspection of imported products at early stages of development (larva, puparium), it is necessary to develop a complex of molecular-genetic methods of diagnostics. To accomplish this task, it is possible to test and use the world experience of molecular identification with PCR and subsequent sequencing of COI gene fragment with universal primers for insects S1859/A2191 (Bogdanowicz et al., 2000), in modification (Kamaev et al., 2015), as well as the proposed international Q-bank primers LCO1490/HCO2198 (Murphy et al., 2015) [2, 5, 7].

диагностики. Для выполнения поставленной задачи возможно апробировать и использовать мировой опыт молекулярной идентификации с применением ПЦР и последующим секвенированием области гена COI с универсальными праймерами для насекомых S1859/A2191 (Bogdanowicz et al., 2000), в модификации (Камаев и др., 2015), а также предложенными международной базой данных Q-bank праймерами LCO1490/ HCO2198 (Murphy et al., 2015) [2, 5, 7].

Использование молекулярного метода позволит идентифицировать *Drosophila suzukii* с точностью до 99–100% на преимагинальных стадиях развития в течение 2–3 дней в зависимости от количества поступивших на анализ образцов личинок или пупариев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

До начала исследования биологический материал хранили в 70%-м этиловом спирте, перед выделением ДНК проводили его просушку до полного выпаривания спирта.

ДНК выделяли из исследуемого материала (пупарии и личинки на различных стадиях развития), обрабатывая образцы протеиназой К с последующим удалением белков без экстракции органическими растворителями, используя набор «ДНК Экстран-2», набор № NG-511-100 (ЗАО «Синтол», Российская Федерация) согласно инструкции производителя.

После выделения ДНК проводили измерение ее концентрации на спектрофотометре NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Stf., США). Рекомендуемая концентрация ДНК для получения качественных продуктов ПЦР должна составлять в пределах 2–130 нг/мкл. При необходимости тотальную ДНК разводили до 50–100 нг/мкл.

Для первого этапа анализа применяли ранее представленные праймеры [5]: S1859 (5' – GGAACIGGATGAAC (A/T) GTTTA (C/T) CCICC – 3') и A2191 (5' – CCCGGTAAATTTAAATATAAACTTC – 3'). В работе использовали условия для ПЦР, оптимизированные Камаевым в соавт., 2015 [2].

Также проводили амплификацию участка ДНК праймерами с LCO1490 (5' – GGTCAACAATCATAAAGATATTGG – 3') и HCO2198 (5' – TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA – 3') при условиях разработчиков.

Видоспецифичные праймеры для азиатской ягодной дрозофилы – Dro-Suz A390 (5' – TTGAACGTGTTTACCCACCTCTT – 3') и Dro-Suz S390 (5' – GGTATTCGGTCTAATGTAATACCC – 3') – апробировали с реагентами отечественного производства [8]. Авторами были предложены состав реакционной смеси и условия амплификации (табл. 1). Данных о том, что указанная пара праймеров была применена в России ранее, не найдено.

Все праймеры разработаны для классической ПЦР, в связи с чем визуализацию продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 1,5%-м агарозном геле. При получении положительного результата на электрофореграмме все анализируемые образцы проходили подготовку проб к анализу методом секвенирования.

Для очистки продуктов ПЦР применяли набор реагентов GeneJET Purification PCR product

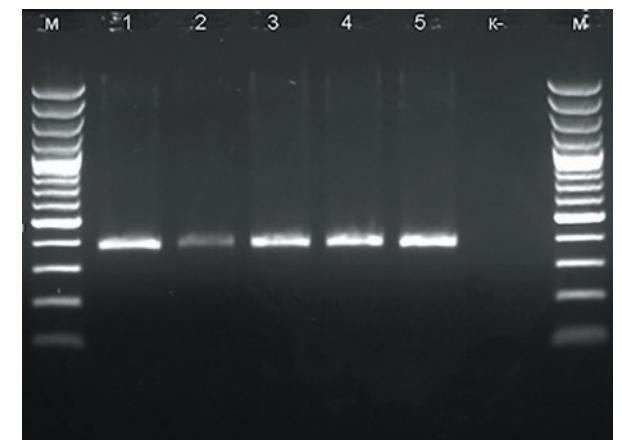


Рис. 1. Электрофореграмма с праймерами S1859/A2191: 1 – *Drosophila suzukii*, 2 – *Drosophila simulans*, 3 – *Drosophila melanogaster*, 4 – *Zaprionus tuberculatus*, 5 – *Zaprionus indianus*, K – отрицательный контроль

Fig. 1. Electrophoregram with primers S1859/A2191: 1 – *Drosophila suzukii*, 2 – *Drosophila simulans*, 3 – *Drosophila melanogaster*, 4 – *Zaprionus tuberculatus*, 5 – *Zaprionus indianus*, K – negative control

The use of the molecular method will make it possible to identify *Drosophila suzukii* with an accuracy of 99–100% at preimaginal stages of development within 2–3 days, depending on the number of larvae or puparia samples submitted for analysis.

MATERIALS AND METHODS

Before the study began, the biological material was stored at 70% ethanol, before DNA extraction it was dried until the alcohol was completely evaporated.

DNA was extracted from test material (puparia and larvae at various stages of development) by treating samples with K proteinase followed by protein removal without extraction with organic solvents, and the “DNA Extran-2” kit, kit № NG-511-100 (ZAO “Sintol”, Russian Federation) were used according to the manufacturer’s instructions.

After DNA extraction, its concentration was measured on the NanoDrop-2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Stf., USA). The recommended DNA concentration for quality PCR products should be in the range of 2–130 ng/μL. If necessary, total DNA was diluted to 50–100 ng/μL.

For the first stage of analysis, the previously presented primers [5] were used: S1859 (5' – GGAACIGGATGAAC (A/T) GTTTA (C/T) CCICC – 3') and A2191 (5' – CCCGTAAATTTAAACTTC – 3'). Optimized conditions for PCR were used in work PCR conditions were optimized by Kamaev et al., 2015 [2].

The amplification of the DNA fragment was also performed with primers LCO1490 (5' – GGTCAACAATCATAAAGATATTGG – 3') and HCO2198 (5' – TAAACTTCAGGTGACCAAAAAATCA – 3').

Species-specific primers for spotted-wing drosophila – Dro-Suz A390 (5' – TTGAACGTGTTTACCCACCTCTT – 3') and Dro-Suz S390 (5' – GGTATTCGGTCTAATGTAATACCC – 3') – were tested with reagents of domestic production [8]. The authors proposed the

¹ Русскоязычное название отсутствует.

Таблица 1
 Состав реакционной смеси для праймеров Dro-Suz A390/Dro-Suz S390 и температурно-временной режим ПЦР

Реагенты	Объем компонента на 1 образец, мкл
Forward primer: Dro-Suz A390	0,5
Reverse primer: Dro-Suz S390	0,5
ScreenMix-HS 5X	5
H ₂ O	17
ДНК	2
Объем	25
Условия ПЦР:	
Денатурация при 95 °С в течение 90 сек	
Далее 35 циклов:	
денатурация	15 сек при 95 °С
отжиг праймеров	30 сек при 58 °С
элонгация	30 сек при 72 °С
Последний этап: финальная элонгация при 72 °С в течение 5 мин	

Kit (Thermo Fisher Stf., США). К каждому продукту ПЦР добавляли 1:1 объем буфера для связывания в готовую смесь для ПЦР (например, на каждые 100 мкл реакционной смеси добавляли 100 мкл буфера для связывания). Тщательно перемешивали. Переносили раствор в очистительную колонку, затем центрифугировали в течение 30–60 с. После этого в колонку очистки добавляли 700 мкл промывочного буфера, центрифугировали в течение 30–60 с, потом выбрасывали проточную часть и помещали колонку очистки обратно в пробирку для сбора. Далее центрифугировали пустую очищающую колонку в течение дополнительной 1 мин, после чего переносили очищающую колонку в чистую 1,5-мллитровую микроцентрифугированную пробирку. Для элюции добавляли 50 мкл буфера в центр мембраны и центрифугировали в течение 1 мин.

Секвенирование проводили на генетическом анализаторе АВ-3500 (Applied Biosystems, США/Япония) с использованием оптимизированного протокола [1].

Полученные участки гена COI анализировали, выравнивали и редактировали с помощью редактора BioEdit v.7.0.5.3. Сравнительный анализ полученных последовательностей проводили с последовательностями Международной базы данных National Center for Biotechnology Information Search database (NCBI) [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

В процессе проведенной работы проанализирован материал, полученный за 2018–2019 гг. лабораторией энтомологии Испытательного лабораторного

composition of reaction mixture as well as amplification conditions (Table 1). No data on the use of this primer pair in Russia was found.

All primers are developed for Conventional PCR, in this connection visualization of amplification products was carried out by horizontal electrophoresis method at 1.5% agarose gel. If a positive result was obtained at the electrophoregram all test samples were prepared for sequence analysis.

The GeneJET Purification PCR product kit (Thermo Fisher Stf., USA) was used for purification of PCR products. To each PCR product added a 1:1 volume of Binding Buffer to completed PCR mixture (e. g. for every 100 µL of reaction mixture, added 100 µL of Binding Buffer). Mixed thoroughly. The solution was transferred to the purification column, then it was centrifuged for 30–60 sec. After that 700 µL of wash buffer was added to the purification column, it was centrifuged for 30–60 sec, then the flow-through was discarded and purification column was placed back into the collection tube. Then the empty purification column was centrifuged for an additional minute, after that the purification column was transferred to a clean 1.5mL microcentrifuged tube. For elution, 50 µL of buffer was added to the center of the purification column membrane and centrifuged for 1 min.

Sequencing was performed on the AB-3500 genetic analyzer (Applied Biosystems, USA/Japan) with the use of optimized protocol [1].

The obtained fragments of the COI gene were analyzed, aligned and edited using BioEdit v.7.0.5.3. Comparison analysis of the obtained sequences was

Table 1
 Composition of reaction mixture for Dro-Suz A390/Dro-Suz S390 primers and temperature-time regime of PCR

Reagents	Component volume per 1 sample, µl
Forward primer: Dro-Suz A390	0.5
Reverse primer: Dro-Suz S390	0.5
ScreenMix-HS 5X	5
H ₂ O	17
DNA	2
Volume	25
PCR conditions	
Denaturation at 95 °C for 90 sec	
Next 35 cycles:	
Denaturation	15 sec at 95 °C
annealing of primer	30 sec at 58 °C
elongation	30 sec at 72 °C
Last stage: final elongation at 72 °C for 5 min	

Таблица 2
 Результаты секвенирования участка гена COI

№ п/п	Идентифицированный вид	Покрытие	Идентичность
1	<i>Drosophila suzukii</i> , ID-код N868747.1, страна Португалия	100%	99,57%
	<i>Drosophila suzukii</i> , ID-код МК435599, страна Турция	100%	99,58%
2	<i>Drosophila simulans</i> , ID-код МК251433, страна Южная Африка	100%	99,66%
	<i>Drosophila simulans</i> , ID-код KJ671606, страна Новая Зеландия	100%	99,66%
3	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID-код KJ463787, страна США	100%	100%
	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID-код МК251427, страна Южная Африка	100%	100%
4	<i>Zaprionus tuberculatus</i> , ID-код МК509763, страна Турция	100%	99,62%
	<i>Zaprionus tuberculatus</i> , ID-код МК509764, страна Турция	100%	99,65%
5	<i>Zaprionus indianus</i> , ID-код EF632362, страна Египет	99%	99,87%
	<i>Zaprionus indianus</i> , ID-код MN824026, страна Иран	99%	99,98%

центра ФГБУ «ВНИИКР» (около 200 образцов puparium и личинок), с помощью 2 участков гена (COI) цитохром С-оксидазы. Апробированы видоспецифичные праймеры для диагностики *Drosophila suzukii*.

Получены последовательности участка гена COI для дальнейшего подбора видоспецифичных праймеров для полноценного подтверждения лабораторных исследований без применения метода секвенирования. Это позволит ускорить время анализа плодоовощной продукции при выявлении преимагинальных стадий развития карантинных видов плодовых мушек семейства Drosophilidae.

Результаты электрофореза, представленные на рисунке 1, показали, что праймерная система S1859/A2191 амплифицировала продукты ПЦР одного размера – 385 пар оснований (п. о.).

Table 2
 Results of COI gene’s fragment sequencing

№	Identified species	Coverage	Identity
1	<i>Drosophila suzukii</i> , ID code N868747.1, Portugal	100%	99.57%
	<i>Drosophila suzukii</i> , ID code МК435599, Turkey	100%	99.58%
2	<i>Drosophila simulans</i> , ID code МК251433, South Africa	100%	99.66%
	<i>Drosophila simulans</i> , ID code KJ671606, New Zealand	100%	99.66%
3	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID code KJ463787, USA	100%	100%
	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID code МК251427, South Africa	100%	100%
4	<i>Zaprionus tuberculatus</i> , ID code МК509763, Turkey	100%	99.62%
	<i>Zaprionus tuberculatus</i> , ID code МК509764, Turkey	100%	99.65%
5	<i>Zaprionus indianus</i> , ID code EF632362, Egypt	99%	99.87%
	<i>Zaprionus indianus</i> , ID code MN824026, Iran	99%	99.98%

performed with the sequences of International database of the National Center for Biotechnology Information Search database (NCBI) [4].

RESULTS AND DISCUSSIONS

In the course of the work, the material obtained in 2018–2019 by the Entomology Laboratory of the Laboratory Testing Center of FGBU “VNIIKR”, for 2 fragments of the gene of cytochrome C-oxidase (COI) was analyzed, and primers for species identification of *Drosophila suzukii* were tested.

Sequences of the fragment of the COI gene were obtained for further selection of species-specific primers for full laboratory validation without sequencing. This will allow to speed up fruit and vegetable product analysis when identifying the preimaginal developmental stages of the quarantine species of the fruit flies of Drosophilidae family.

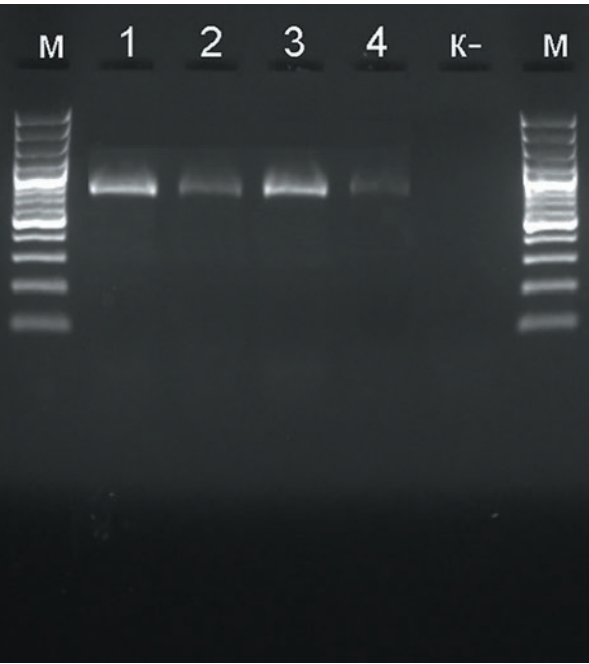


Рис. 2. Электрофореграмма с праймерами HCO2198/LCO1490: 1 – *Drosophila suzukii*, 2 – *Zaprionus indianus*, 3 – *Drosophila simulans*, 4 – *Drosophila melanogaster*, K – отрицательный контроль

Отрицательный контроль показал отсутствие контаминации между образцами разных видов плодовых мушек при выделении ДНК из них. Положительный контроль в исследовании не предполагался, так как выделение ДНК осуществляли из проб макрообъекта. Результаты генетического анализа последовательностей представлены в таблице 2.

Из таблицы 2 видно, что представленные образцы разного географического происхождения идентичны последовательностям базы NCBI от 99,57% до 100% с покрытием от 99% до 100%. Полученные данные могут быть использованы для дальнейшего анализа целевого участка ДНК плодовых мушек при подборе видоспецифичных тестов.

Результаты ПЦР с праймерами HCO2198/LCO1490 представлены на рисунке 2. Отмечено, что все целевые образцы сработали положительно с образованием продукта ПЦР размером около 800 п. о. Точный размер продуктов ПЦР из-за размерного ряда маркера молекулярного веса установить не представлялось возможным, и это не влияло на результат исследования. Результаты анализа последовательностей представлены на рисунке 2.

Результат генетического анализа представлен в таблице 3 при соответствии порядкового номера с электрофореграммой амплификации (рис. 2).

Из таблицы 3 видно, что полученные последовательности соответствуют данным NCBI при анализе образцов разного географического происхождения при идентичности и покрытии от 99,81% до 100% и от 99% до 100% соответственно. На основе нуклеотидных последовательностей, представленных выше, а также не вошедших в полное описание результатов анализа коллекции образцов

The results of electrophoresis, which are presented in Fig. 1, showed that the primer system S1859/A2191 amplified PCR products of the same size – 385 base pairs (b. p).

Negative control showed no contamination between samples of different species of fruit flies during DNA extraction. No positive control was used in the study since DNA was extracted from macro-object samples. The results of genetic analysis of the sequences are presented in Table 2.

Table 2 shows that the presented samples of different geographical origin are identical to the NCBI base sequences from 99.57% to 100% with coverage from 99% to 100%. The data obtained can be used for further analysis of the target fragment of fruit fly DNA in the selection of species-specific tests.

The results of PCR with HCO2198/LCO1490 primers are shown in Figure 2. It is noted that all target samples have worked positively with formation of PCR product of about 800 b. p. It was not possible to specify the exact size of the PCR products due to the range size of the molecular weight marker, which did not affect the result of the study. The results of sequence analysis are presented in Figure 2.

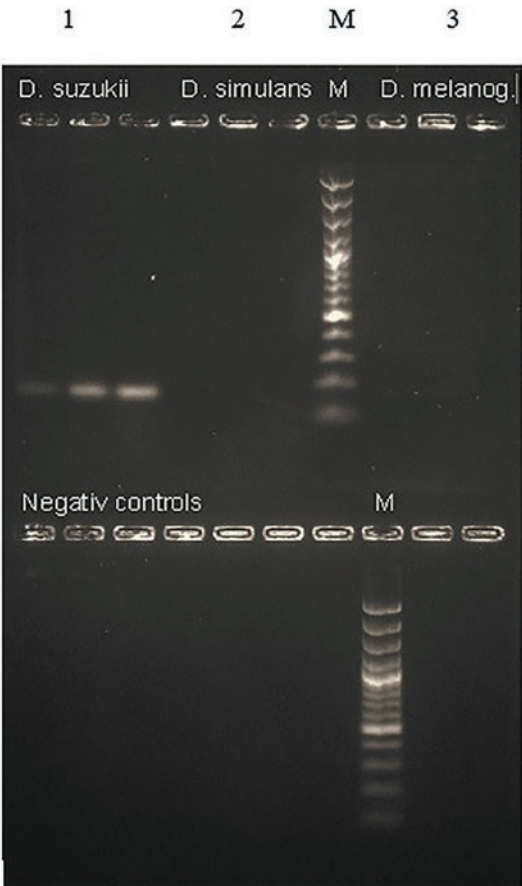


Рис. 3. Электрофореграмма с праймерами Dro-Suz A390/Dro-Suz S390: 1 – *Drosophila suzukii*, 2 – *Drosophila simulans*, 3 – *Drosophila melanogaster*, K – отрицательный контроль

Таблица 3
 Результаты анализа с праймерами HCO2198/LCO1490

№ п/п	Результат исследования	Покрытие	Идентичность
1	<i>Drosophila suzukii</i> , ID-код МК435596, страна Турция	100%	100%
	<i>Drosophila suzukii</i> , ID-код MG605095, страна Швейцария	100%	100%
2	<i>Zaprionus indianus</i> , ID-код EF632367, страна Индия	99%	99,81%
	<i>Zaprionus indianus</i> , ID-код KF736189, страна Индия	99%	99,81%
3	<i>Drosophila simulans</i> , ID-код МК801758, страна Турция	100%	100%
	<i>Drosophila simulans</i> , ID-код KX161438, страна Испания	100%	100%
4	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID-код МК236169, страна Китай	100%	100%
	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID-код МК236173, страна Китай	100%	100%

лаборатории будет выполнен подбор видоспецифичных праймеров не только для проведения идентификации методом классической ПЦР, но также с подбором зондов для ПЦР в режиме реального времени.

Результаты исследования с праймерной системой Dro-Suz A390/Dro-Suz S390, предполагаемой для видовой идентификации, на первом этапе исследования получили достаточно информативные.

На электрофореграмме (рис. 3) видно, что праймеры позволили получить продукт ПЦР только для *Drosophila suzukii*, в то время как ДНК *Drosophila simulans* и *Drosophila melanogaster* оказались неспецифичны для целевого участка, на который подобрана система праймеров Dro-Suz A390/Dro-Suz S390. Установлено, что вышеуказанная система может использоваться в качестве видоспецифичного теста для выявления азиатской ягодной дрозофилы среди видов мушек, встречающихся в характерной для нее продукции. Необходимы дальнейшие апробация и валидация для

Table 3 shows the result of genetic analysis; the order number corresponds with the amplification electrophoregram (Fig. 2).

The table 3 shows that the obtained sequences correspond to NCBI data while analyzing samples of different geographical origin with an identity and coverage from 99.81% to 100% and from 99% to 100% respectively. On the basis of the nucleotide sequences presented above, as well as those not included in the full description of the results of the analysis of the collection of samples, the selection of species-specific primers will be made not only for identification by conventional PCR, but also with the selection of probes for Real Time PCR.

The results obtained at the first stage of the research using Dro-Suz A390/Dro-Suz S390 primer system for species identification were quite informative.

The electrophoregram (Fig. 3) shows that the primers allowed to obtain PCR product only for *Drosophila suzukii*, while DNAs of *Drosophila simulans* and *Drosophila melanogaster* were not specific for the target fragment, for which the Dro-Suz A390/Dro-Suz S390 primer system was selected. It was found that

Table 3
 Results of analysis with primers HCO2198/LCO1490

№	Result of research	Coverage	Identity
1	<i>Drosophila suzukii</i> , ID code МК435596, Turkey	100%	100%
	<i>Drosophila suzukii</i> , ID code MG605095, Switzerland	100%	100%
2	<i>Zaprionus indianus</i> , ID code EF632367, India	99%	99.81%
	<i>Zaprionus indianus</i> , ID code KF736189, India	99%	99.81%
3	<i>Drosophila simulans</i> , ID code МК801758, Turkey	100%	100%
	<i>Drosophila simulans</i> , ID code KX161438, Spain	100%	100%
4	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID code МК236169, China	100%	100%
	<i>Drosophila melanogaster</i> , ID code МК236173, China	100%	100%

определения перекрестных реакций с другими видами семейства Drosophilidae.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белкин Д.Л., Бондаренко Г.Н., Яремко А.Б., Уварова Д.А. Метод секвенирования в видовой идентификации карантинных вредных организмов // Карантин растений. Наука и практика. – 2019. – № 2 (28). – С. 31–37.
2. Камаев И.О., Мазурин Е.С., Шипулин А.В. Непарный шелкопряд (*Lymantria dispar*): выделение внутривидовых комплексов и молекулярно-генетические подходы к идентификации азиатского подвида // Карантин растений. Наука и практика. – 2015. – № 1 (11). – С. 45–58.
3. Нестеренкова А.Э. Методические рекомендации по выявлению и идентификации азиатской плодовой мушки *Drosophila suzukii* Mats. – М.: ФГБУ «ВНИИКР», 2012. – 36 с.
4. Basic local alignment search tool / NCBI. – URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 28.05.2020).
5. Bogdanowicz S.M., Schaefer P.W., Harrison R.G. Mitochondrial DNA variation among worldwide populations of gypsy moths, *Lymantria dispar* // Molecular Phylogenetics and Evolution. – 2000. – Vol. 15, No. 3. – P. 487–495.
6. Kanzawa T. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi agricultural experiment station. 49 p. // Abstract in Review of Applied Entomology. – 1939. – Vol. 29. – P. 622.
7. Murphy K.A., Unruh T.R., Zhou L.M., Zalom F.G., Shearer P.W., Beers E.H., ... & Chiu J.C. Using comparative genomics to develop a molecular diagnostic for the identification of an emerging pest *Drosophila suzukii* // Bulletin of entomological research. – 2015. – Vol. 105, No. 3. – P. 364–372.
8. Wolf S., Zeisler C., Sint D., Romeis J., Traugott M., Collatz J. A simple and cost-effective molecular method to track predation on *Drosophila suzukii* in the field // Journal of Pest Science. – 2018. – Vol. 91, No. 2. – P. 927–935.

the above-mentioned system could be used as a species-specific test to identify spotted-wing drosophila among the species of flies found in its host products. Further approbation and validation for possible cross-reactions with other species of Drosophilidae family is required.

REFERENCES

1. Belkin D.L., Bondarenko G.N., Yaremko A.B., Uvarova D.A. Sequencing method in identification of species of quarantine pests. *Plant Health. Research and Practice*. 2019; 2 (28): 31–37.
2. Kamayev I.O., Mazurin E.S., Shipulin A.V. Distinguishing between the Gypsy moth (*Lymantria dispar*) intraspecific groups and molecular genetic approaches to the identification of Asian subspecies. *Plant Health. Research and Practice*. 2015; 1 (11): 45–58.
3. Nesterenkova A.E. Methodical recommendations for detection and identification of spotted-wing drosophila *Drosophila suzukii* Mats. [Metodicheskie rekomendacii po vyivleniiu i identifikacii aziatskoj plodovoj mushki *Drosophila suzukii* Mats.]. М.: FGBU “VNIKR”, 2012. 36 p. (in Russian).
4. Basic local alignment search tool. NCBI. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed date: 28.05.2020).
5. Bogdanowicz S.M., Schaefer P.W., Harrison R.G. Mitochondrial DNA variation among worldwide populations of gypsy moths, *Lymantria dispar*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2000; 15 (3): 487–495.
6. Kanzawa T. Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi agricultural *experiment* station. 49 p. Abstract in *Review of Applied Entomology*. 1939; 29: 622.
7. Murphy K.A., Unruh T.R., Zhou L.M., Zalom F.G., Shearer P.W., Beers E.H., ... & Chiu J.C. Using comparative genomics to develop a molecular diagnostic for the identification of an emerging pest *Drosophila suzukii*. *Bulletin of entomological research*. 2015; 105 (3): 364–372.
8. Wolf S., Zeisler C., Sint D., Romeis J., Traugott M., Collatz J. A simple and cost-effective molecular method to track predation on *Drosophila suzukii* in the field. *Journal of Pest Science*. 2018; 91 (2): 927–935.

УДК 632.9

Анализ экологического риска *Torymus sinensis* – специализированного паразитоида восточной каштановой орехотворки *Dryocosmus kuriphilus*

Ю.И. ГНИНЕНКО, к. б. н., заведующий лабораторией защиты леса от инвазивных и карантинных организмов ФБУ «ВНИИЛМ» (Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства), e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

Аннотация. Восточная каштановая орехотворка после первого появления в России довольно быстро заняла все места произрастания каштана посевного и стала вредить. Местные энтомофаги не могут эффективно регулировать ее численность, поэтому интродукция ее специализированного паразитоида *Torymus sinensis*, основанная на опыте многих стран, является единственной возможностью быстро снизить численность вредителя и предотвратить дальнейшее ухудшение состояния каштана. Проведен анализ экологического риска завоза нового энтомофага и показано, что его интродукция не имеет сколько-нибудь заметных рисков для естественных лесных сообществ.

Ключевые слова. Восточная каштановая орехотворка, торимус, анализ экологического риска.



ВВЕДЕНИЕ

Восточная каштановая орехотворка *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) проникла на территорию России в районе г. Сочи и впервые была выявлена на каштане посевном в Сочинском национальном парке (СНП) в 2016 г. [2, 6]. Попад на особо охраняемую природную территорию (ООПТ), каковой является СНП, этот инвайдер фактически сам оказался под охраной статуса национального парка.

В результате сложившейся ситуации принять действенные меры по защите каштана от серьезной опасности, которую представляет орехотворка,

UDC 632.9

Environmental risk assessment of *Torymus sinensis*, a specialized parasitoid of the oriental chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*

YU.I. GNINENKO, PhD in Biology, Head of the Laboratory of Forest Protection against Invasive and Quarantine Organisms FBU “VNIILM” (All-Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry), e-mail: gninenko-yuri@mail.ru

Abstract. After the introduction into Russia, the oriental chestnut gall wasp has spread in all growing areas of sweet chestnut and started to cause damage. Local entomophages are unable to regulate its numbers effectively, so the introduction of its specialized parasitoid *Torymus sinensis*, based on the experience of many countries, is the only way to quickly reduce the number of pests and prevent further deterioration of chestnut. The environmental risk assessment of the new entomophage has been carried out and its introduction has been shown not to have notable risks for natural forest communities.

Keywords. Oriental chestnut gall wasp, *Torymus sinensis*, environmental risk assessment.

INTRODUCTION

The oriental chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) was introduced in the territory of Russia near the city of Sochi and was first detected on the sweet chestnut in Sochi National Park (SNP) in 2016 [2, 6]. Having entered the specially protected natural area (SPNA), which is the SNP, this invader actually found himself under protection of the status of the national park.

оказалось невозможным. Это привело к тому, что каштан, находящийся уже много лет под воздействием ранее проникшего сюда инвайдера – фитопатогенного гриба *Cryphonectria parasitica*, возбудителя крифонектриевого некроза, оказался под еще более сильной угрозой.

Единственной возможностью предотвратить ухудшение состояния каштана является, как показывает опыт всех стран, в леса которых проникала ранее эта орехотворка, интродукция ее специализированного энтомофага *Torymus sinensis*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена в 2017–2019 гг. в лиственных лесах Черноморского побережья Краснодарского края. Обследование каштана посевного *Castanea sativa* с целью выявления восточной каштановой орехотворки проводили в соответствии с рекомендациями по выявлению и идентификации этого инвайдера [1].

Выведенных из галлов орехотворки паразитоидов фиксировали и отправляли на определение их видовой принадлежности д-ру Г. Мелике (Будапешт, Венгрия).

Анализ экологического риска (АЭР) проведен в соответствии со стандартом ЕОКЗР РМ 6/4 «Схема принятия решения для ввоза и выпуска агентов биологической борьбы с вредителями растений» [4], а также с межгосударственным стандартом ГОСТ 33828-2016 «Защита растений. Требования к обороту агентов биологической борьбы и других полезных организмов» [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Восточная каштановая орехотворка откладывает яйца внутрь почек каштана, и развивающаяся личинка превращает появляющиеся листья в галлы (рис. 1–2). Галлы бывают разной формы и по-разному располагаются на листьях (рис. 3). Внутри галла развивается белая личинка (рис. 4), затем происходит окукливание и из галлов выходят особи нового поколения. Восточная каштановая орехотворка развивается парthenогенетически, то есть в популяции встречаются только самки.

Появление любого инвайдера на особо охраняемой природной территории делает его объектом охраны по факту обитания здесь. Действующее природоохранное законодательство не допускает применения пестицидов против какой бы то ни было угрозы. Такое положение практически полностью исключает принятие мер, адекватных угрозе, какую представляют новые чуждые вселенцы природным сообществам ООПТ.



Рис. 1. Галлы в период своего интенсивного формирования весной (фото Ю.И. Гниненко)

Fig. 1. Galls during their intense formation in the spring (photo by Yu.I. Gninenko)

This situation made it impossible to take effective measures to protect chestnuts from the serious danger caused by the gall wasp. This led to the fact that the chestnut, which had been under the influence of the previously introduced phytopathogenic fungus *Cryphonectria parasitica* for many years, the agent of *Cryphonectria parasitica* necrosis, was under even greater threat.

As the experience of the countries forests in which this gall wasp previously invaded shows, the only way to prevent the deterioration of the chestnut is the introduction of its specialized entomophage *Torymus sinensis*.

MATERIALS AND METHODS

The work was performed in 2017–2019 in deciduous forests of the Black Sea coast of Krasnodar Region.



Рис. 2. Галлы полностью уничтожили почку каштана, и листья не сформировались (фото Ю.И. Гниненко)

Fig. 2. Galls completely destroyed the chestnut bud, and the leaves have not formed (photo by Yu.I. Gninenko)

Но не только статус ООПТ не позволяет использовать пестициды для уничтожения орехотворки. Сложности их применения в местных условиях связаны с несколькими причинами. Во-первых, каштан принимает незначительное участие в составе древостоев, чаще всего не превышая 20–30% от общего числа деревьев. При таких условиях проведение авиационных опрыскиваний приведет к обработке пестицидами в большей степени, чем кроны каштана, кроны других деревьев. Во-вторых, каштаны растут в горах, и пересеченная местность существенно усложняет проведение авиационных обработок.

Существуют и серьезные ограничения на возможность проведения внутриветвистовых инъекций. При таком способе защиты каштана препарат окажется в орешках каштана и в каштановом меде. А это уже представляет непосредственную опасность для людей.

Следовательно, надежно защитить каштан от восточной каштановой орехотворки очень непросто. Но применение пестицидов в любом случае не

The study of the sweet chestnut *Castanea sativa* was conducted in accordance with the recommendations on detection and identification of this invasive species [1].

Parasitoids extracted from the galls of the gall wasp were fixed and sent to Dr. G. Melika (Budapest, Hungary) for identification of their species.

The environmental risk assessment (ERA) was conducted in accordance with the EPPO Standard PM 6/4 “Decision-support scheme for import and release of biological control agents of plant pests” [4], as well as with the interstate standard GOST 33828-2016 “Plant protection. Requirements to turnover of biological control agents and other useful organisms” [3].

RESULTS AND DISCUSSIONS

The oriental chestnut gall wasp lays eggs inside the chestnut buds, and the developing larva turns the emerging leaves into galls (Fig. 1–2). Galls have different shapes and are placed differently on leaves (Fig. 3). A white larva develops inside a gall (Fig. 4), then pupation occurs and individuals of new generation are emerging from the galls. The oriental chestnut gall wasp develops parthenogenetically, i. e., the population consists only of females.

The introduction of any invasive species in a specially protected area makes it a protection species. Current environmental legislation does not allow the use of pesticides against any threat, which almost completely excludes the adoption of measures adequate to the risk caused by new invasive alien species to the natural communities of specially protected natural area (SPNA).

But it's not only the status of specially protected natural area which does not allow the use of pesticides for eradication of the gall wasp. The difficulties of their application in local conditions are connected with several reasons. Firstly, chestnut takes an insignificant part in the composition of trees, most often not exceeding 20–30% of the total number of trees. Under such conditions, aerial spraying will result in more pesticide treatments of the crowns of other trees, than of chestnuts. Secondly, chestnuts grow in the mountains, and the rugged terrain makes aerial spraying much more difficult.

There are also serious limitations on the possibility of trunk injections. With this protection method the preparation will get into chestnut fruits and chestnut

Таблица
Состояние восточной каштановой орехотворки
внутри галлов

		Состояние орехотворки в галлах, % от общего числа		
Место сбора галлов		здоровые	паразити- рованные	погибшие от болезней
Дагомыс,	2017 г.	35,1	46,2	18,7
	2018 г.	80,8	10,8	8,4
Красная Поляна, 2017 г.		41,3	24,2	35,5

может обеспечить долгосрочную защиту каштана. Через некоторое время после даже очень успешной обработки численность орехотворки вновь возрастет. Это сделает проведение мер химической защиты регулярным.

Выполненные нами в 2017–2019 гг. исследования показали, что местные энтомофаги несущественно влияют на численность орехотворки (см. таблицу). Всего на орехотворке в 2017 г. нами выявлены 2 вида паразитоидов: *Eupelmus urozonus* и *Mesopolobus sericeus*, которые не могут эффективно регулировать ее численность. Оба эти вида связаны с дубовыми орехотворками, которые часто встречаются на дубах на Кавказе. Указанные паразитоиды перешли на восточную каштановую орехотворку, поскольку она появилась в местах их обитания, но их численность и степень заражения ими нового хозяина зависит от численности дубовых орехотворок.

Сравнительно высокий уровень паразитизма местными паразитоидами в 2017 г. объясняется низкой численностью каштановой орехотворки и небольшой выборкой.

В европейских странах также местные паразитоидные виды, трофически связанные с дубовыми орехотворками, адаптировались к этому новому хозяину, но не могут эффективно регулировать его численность.

В Китае, Японии и Корее¹ известно несколько паразитоидов, в том числе *Torymus sinensis*, *T. beneficus*, *Megastigmus maculipennis*, *M. nipponicus*, *Ormyrus flavitibialis* и другие [8, 9, 14]. Некоторые из них весьма эффективны, а *Torymus sinensis* был даже интродуцирован в Японию и Корею как агент биологической защиты и использовался в программах массового разведения и выпуска [13 и др.]. Некоторые транспалеарктические паразитоиды, обычные для орехотворок дуба [12], также являются эффективными энтомофагами *D. kuriphilus*. К их числу следует отнести прежде всего *Totymus geranii*, *Ormyrus pomaceys*, *Eurytoma brunniventris* [14]. Изучение паразитоидов показало, что

honey. And this poses an immediate danger to people.

Therefore, it is not easy to reliably protect a chestnut from the oriental chestnut gall wasp. However, the use of pesticides in any case can not provide long-term protection for the chestnut. After some time, even after a very successful treatment, the number of gall wasp will increase again. This will make the application of chemical protection measures regular.

Our studies in 2017–2019 showed that local entomophages have no significant impact on the number of gall wasp (see table). In total, in 2017 we identified 2 parasitoid species on the gall wasp: *Eupelmus urozonus* and *Mesopolobus sericeus*, which are unable to regulate its abundance effectively. Both species are associated with oak cherry-gall wasps, which are often found on oaks in the Caucasus. These parasitoids moved to the oriental chestnut gall wasp because it appeared in their habitats, but their number and degree of infestation of the new host depends on the number of oak cherry-gall wasps.

The relatively high level of parasitism by local parasitoids in 2017 is explained by the low number of oriental chestnut gall wasp and a reduced sampling.

In European countries as well, local parasitoid species that are trophically associated with oak cherry-gall wasps have adapted to this new host, but are unable to regulate its population effectively.

Several parasitoids are known in China, Japan and Korea¹, including *Torymus sinensis*, *T. beneficus*, *Megastigmus maculipennis*, *M. nipponicus*, *Ormyrus flavitibialis* and others [8, 9, 14]. Some of them are very effective, and *Torymus sinensis* was even introduced to Japan and Korea as the biological control agent and used in mass breeding and release programs [13, etc.]. Some transpalearctic parasitoids, common for oak cherry-gall wasps [12], are also effective entomophages of *D. kuriphilus*. These include *Totymus geranii*, *Ormyrus pomaceys*, and *Eurytoma brunniventris* [14]. The study of parasitoids has shown that 26 species are found in Japan, 11 in China and 15 in Korea [5]. In China, the mortality

¹ This refers to the geographical territory where 2 states are located – the Republic of Korea and the DPRK.

Table
Condition of the oriental chestnut gall wasp inside the galls

		Condition of the gall wasp in the galls, % of the total		
Collecting points of galls		healthy	parasitized	died from disease
Dagomys,	2017	35.1	46.2	18.7
	2018	80.8	10.8	8.4
Krasnaya Polyana, 2017		41.3	24.2	35.5

¹ Подразумевается географическая территория, на которой расположены 2 государства – Республика Корея и КНДР.

в Японии встречается 26 видов, в Китае – 11, в Корее – 15 видов [5]. В Китае гибель особей каштановой орехотворки от комплекса паразитоидов в разные годы и в разных популяциях колеблется от 3 до 40%. Однако общий уровень гибели указанной орехотворки от паразитоидов в природных условиях здесь составляет в разные годы от 0,5 до 1,6%.

Из галлов *D. kuriphilus* выведено следующее число местных паразитических энтомофагов: в Италии – 39 видов, в Словении – 28 видов, в Хорватии – 20 видов. В Венгрии в 2013 г. было известно 11 видов, а в 2015 г. количество паразитоидных видов увеличилось до 17. Показатель паразитирования этой орехотворки в Венгрии составлял 2,0–4,7% [5 и др.].

Таким образом, повсеместно в формирующемся вторичном ареале восточной каштановой орехотворки местные виды паразитоидов, трофически связанные с дубовыми орехотворками, хотя и переходят на нового хозяина, но не могут эффективно регулировать его численность.

Поэтому большинство стран, на территорию которых проникла восточная каштановая орехотворка, в качестве меры защиты проводят интродукцию ее специализированного энтомофага *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Torymidae) [10, 11, 13 и др.]. В тех европейских странах, где несколько лет назад приступили к интродукции торимуса, уже через 2–3 года получили выраженное и стойкое уменьшение численности вредителя [11]. Уровень поражения почек каштана примерно через 3–4 года после интродукции торимуса снизился до 3%, и орехотворка перестала представлять значимую угрозу [11, 12].

И в России судьба каштана посевного зависит от того, насколько быстро будет решен вопрос об интродукции этого паразитоида в леса с участием данного вида каштана. Чтобы оценить уровень экологических рисков, которые могут возникать при завозе торимуса, нами проведен анализ экологического риска такой интродукции.

Анализ экологического риска интродукции может иметь характер экспресс-оценки. Если выводы такой оценки неоднозначны и при принятии решения о целесообразности интродукции необходим более детальный анализ, тогда осуществляют полный АЭР.

Первоначально следует провести именно экспресс-оценку, которая состоит из нескольких этапов, выполняемых последовательно. На подготовительной стадии АЭР эксперты оценивают значение вида как возможного агента биологической защиты (АБЗ) и определяют причины и цели проводимого анализа.

Китайский торимус *Torymus sinensis* является специализированным паразитоидом восточной каштановой орехотворки, широко распространенным в ее природном ареале в Восточной Азии. После того, как орехотворка проникла из мест своего природного обитания в другие страны и стала повсеместно в новых местах обитания опасным вредителем каштана посевного, именно торимус оказался наиболее эффективным ее паразитоидом и был интродуцирован во многие страны.

Везде, где проводили интродукцию торимуса, в течение первых 2–3 лет после выпусков началось сокращение численности орехотворки, и уже обычно на 3-й год после интродукции вред

rate of the oriental chestnut gall wasp’s species from the parasitoid complex varies from 3 to 40% in different years and in different populations. However, the total mortality rate of the gall wasp from parasitoids in natural conditions here varies from 0.5 to 1.6% in different years.

The following number of local entomophagous parasites was extracted from *D. kuriphilus* galls: in Italy – 39 species, in Slovenia – 28 species, in Croatia – 20 species. In Hungary, 11 species were known in 2013 and in 2015 the number of parasitoid species increased to 17. The parasitization rate of this gall wasp in Hungary was 2.0–4.7% [5 etc.].

Thus, everywhere in the forming secondary area of the the oriental chestnut gall wasp, local parasitoid species that are trophically associated with oak cherry-gall wasps, although moving to a new host, but can not effectively regulate its numbers.

Therefore, the majority of the countries where the oriental chestnut gall wasp was introduced carry out the introduction of its specialized entomophage *Torymus sinensis* Kamijo, 1982 (Hymenoptera: Torymidae) as a protection measure [10, 11, 13, etc.]. In the European countries that started the introduction of torymus several years ago, in 2–3 years a significant and persistent decline in pest population was reached. The level of damage on chestnut buds decreased to 3% in about 3–4 years after the introduction of torymus, and the gall wasp stopped to be a significant risk [11, 12].

In Russia the fate of sweet chestnut also depends on how fast the question of the introduction of this parasitoid into the forests where this species of chestnut is present will be resolved. In order to assess the level of environmental risks that may arise when introducing torymus, we have analyzed the environmental risk of such introduction.

Environmental risk assessment of introduction may be carried out as an express assessment. If the conclusions of such assessment are ambiguous and a more detailed analysis is needed when deciding on the expediency of introduction, then a full ERA is carried out.

The first step is to conduct an express assessment, which consists of several stages, carried out in sequence. In the preparatory stage of ERA, experts assess the importance of the species as a possible biological control agents (BCA), and determine the reasons and objectives for the analysis.

The Chinese *Torymus sinensis* is a specialized parasitoid of the oriental chestnut gall wasp, widely distributed in its natural range in East Asia. After the gall wasp moved from its natural habitat to other countries and became a harmful pest of sweet chestnut everywhere, it was the torymus that proved to be its most effective parasitoid and was introduced into many countries.

All over the place where torymus was introduced, during the first 2–3 years after releases, the number of the gall wasp began to decrease, and usually in the 3rd year after introduction, the damage from the oriental chestnut gall wasp was noticeably reduced and gradually lost its economic importance.

от орехотворки заметно сокращался и постепенно она утрачивала хозяйственное значение.

Такой результат делает торимус возможным агентом биологической защиты каштана посевного на территории России, куда восточная каштановая орехотворка проникла в 2016 г. (к 2018 г. она уже стала заметным вредителем каштана посевного в районе Большого Сочи).

Вывод о возможности использования торимуса в качестве АБЗ позволяет перейти к следующему шагу: формулированию причины проведения АЭР.

Оценка экологического риска проводится в связи с необходимостью определения возможности интродукции торимуса в леса Черноморского побережья Краснодарского края для сокращения ущерба, который наносит каштановым лесам восточная каштановая орехотворка. Выбор торимуса в качестве объекта АЭР связан прежде всего с тем, что только его интродукция в ближайшее время сможет прекратить вредную деятельность орехотворки и предотвратит ухудшение состояния каштанов.

Таким образом, проведение АЭР торимуса объясняется тем, что он является важным кандидатом для интродукции как возможный эффективный АБЗ, способный существенно улучшить состояние каштана посевного в ареале инвазии восточной каштановой орехотворки.

При выполнении АЭР важно знать, был ли ранее проведен такой анализ и каковы его результаты. Не исключено, что результаты такого анализа, если он был выполнен ранее специалистами, позволят более точно провести наш анализ. Насколько нам известно, такой анализ ранее в России не был осуществлен, а имеющиеся в ряде стран Европы анализы продемонстрировали низкий уровень опасности от вселения торимуса.

Реализованный предварительный этап АЭР торимуса показывает, что цели его интродукции вполне достижимы и уровень опасности от него невелик. Это позволяет перейти к следующему этапу – категоризации торимуса, то есть оценке того, является ли данный вид четкой таксономической единицей, какую часть формирующегося вторичного ареала орехотворки он может занять и насколько велико будет его воздействие на целевого вредителя.

Важно подчеркнуть, что *T. sinensis* является четкой таксономической единицей, вид принадлежит к отряду Hymenoptera, надсемейству Chalcidoidea, семейству Torymidae, роду *Torymus*.

Вторым шагом на этом этапе является определение зоны риска, то есть той территории, на которую могут быть распространены результаты АЭР. В нашем случае зоной, на которую будут распространены результаты анализа, является та часть территории Российской Федерации, где произрастает каштан посевной. Эта территория ограничивается югом Краснодарского края и частью территории Республики Адыгея – теми территориями, где каштан посевной естественно произрастает в природных лесных сообществах.

Следующим шагом на этом этапе является максимально точное описание вероятного распространения торимуса в зоне оценки риска, то есть в ареале каштана посевного на Кавказе.

Каштан посевной естественно произрастает на территории России только в некоторых районах

This result makes the torymus a possible biological control agent for the sweet chestnut in Russia, where the oriental chestnut gall wasp introduction occurred in 2016 (by 2018 it had already become an important pest of sweet chestnut in the Greater Sochi area).

The conclusion of the possibility of using the torymus as BCA allows us to proceed to the next step: formulating the reason for conducting ERA.

The environmental risk assessment is conducted in connection with the need to determine the possibility of the introduction of torymus into the forests of the Black Sea coast of Krasnodar Region in order to reduce the damage caused to chestnut forests by the oriental chestnut gall wasp. The choice of the torymus as an ERA object is primarily due to the fact that only its introduction in the near future will be able to stop the harmful activity of the gall wasp and prevent the deterioration of chestnuts.

Thus, the implementation of ERA of torymus is explained by the fact that it is an important candidate for introduction as a possible effective BCA, which can significantly improve the condition of the sweet chestnut in the invasion range of the oriental chestnut gall wasp.

When performing ERA, it is important to know if such analysis has previously been carried out and what its results are. It is possible that the results of such analysis, if it has been carried out earlier by specialists, will allow us to carry out our analysis more accurately. As far as we know, such analysis has not been carried out earlier in Russia, and the analyses available in a number of European countries have shown a low level of danger from the torymus introduction.

The implemented preliminary stage of the ERA of torymus shows that the goals of its introduction are quite achievable and the level of risk is low. This allows us to move on to the next stage – categorization of the torymus, i. e. to assess whether the species is a clear taxonomic unit, what part of the emerging secondary range of the gall wasp it may occupy, and how large its impact on the target pest will be.

It is important to emphasize that *T. sinensis* is a clear taxonomic unit, the species belongs to the Hymenoptera order, Chalcidoidea superfamily, Torymidae family, *Torymus* genus.

The second step at this stage is to determine the risk area, i. e. the area for which the results of ERA are relevant. In our case, such area is the part of the Russian Federation, where sweet chestnut grows. This area is limited to the south of the Krasnodar Region and part of the territory of the Republic of Adygea – those areas where sweet chestnut naturally grows in natural forest communities.

The next step at this stage is to describe as accurately as possible the probable distribution of torymus in the area of risk assessment, i. e. in the habitat of sweet chestnut in the Caucasus.

Sweet chestnut naturally grows on the territory of Russia only in some areas of Krasnodar Region (from the state border with Abkhazia in the south to Tuapse in the north of the Black Sea coast), as well as in a small part of the south of the Republic of Adygea.



Рис. 3. Разные типы галлов на листьях каштана (фото Ю.И. Гниненко)

Fig. 3. Different types of galls on chestnut leaves (photo by Yu.I. Gninenko)

Краснодарского края (от государственной границы с Абхазией на юге до Туапсе на севере Черноморского побережья), а также на небольшой части юга территории Республики Адыгея.

Каштан посевной не используется в качестве озеленительного растения и не культивируется за пределами своего естественного ареала, поэтому нет оснований расширять зону оценки экологического риска торимуса.

Таким образом, на данном этапе анализа установлено, что территорией, на которую распространяется АЭР, являются южные районы Краснодарского края и Республики Адыгея, где естественно произрастает каштан посевной.

Следующим этапом АЭР является оценка его вероятного воздействия на лесные сообщества и на каштан посевной. Первым шагом на этом этапе является формулировка цели использования торимуса.

Целевой хозяин торимуса – восточная каштановая орехотворка – является инвазивным организмом, впервые выявленным на территории зоны АЭР в 2016 г. За это время орехотворка стала опасным вредителем каштана, и ее массовое размножение уже привело к тому, что, по сообщению пчеловодов, сбор каштанового меда в районе вселения орехотворки снизился в 2019 г. более чем в 3 раза, по сравнению с периодом до ее инвазии. Поэтому планируется ввоз торимуса и его выпуск в местах инвазии орехотворки с целью предотвращения нанесения ею ущерба.

Важно также оценить вероятность акклиматизации торимуса в новых для него местах обитания. Родиной торимуса является Восточная Азия, где он успешно регулирует численность орехотворки на китайском каштане. В настоящее время он завезен

Sweet chestnut is not used as a plant for greenery and is not cultivated outside its natural range, so there is no reason to expand the area of environmental risk assessment of torymus.

Thus, at this stage of the analysis, it has been established that the territory covered by the ERA is the southern areas of the Krasnodar Region and the Republic of Adygea, where sweet chestnut naturally grows.

The next stage of the ERA is to assess its probable impact on forest communities and on sweet chestnut. The first step in this stage is to formulate the purpose of the use of torymus.

The targeted host of torymus, the oriental chestnut gall wasp, is an invasive organism first identified in the ERA area in 2016. During this time, the gall wasp has become a harmful pest of chestnuts, and its mass reproduction has already led to the fact that, according to beekeepers, the gathering of chestnut honey in the invasion area of the gall wasp decreased by more than 3 times in 2019 compared to the period before its invasion. Therefore, it is planned to introduce torymus and release it at the invasion places of gall wasp in order to prevent its damage.

It is also important to assess the probability of torymus establishment in new habitats. The natural habitat of torymus is East Asia, where it successfully regulates the number of gall wasp on Chinese chestnut. Currently, it is introduced to European countries such as Italy, Greece, Slovenia, Hungary, etc., as well as to Turkey. Thus, the secondary (invasive) area of torymus is now no less extensive than its primary natural area in East Asia.

There are no obstacles for torymus to successfully establish on the Black Sea coast of Krasnodar Region and in the Republic of Adygea in the places of growing of sweet chestnut. In all places where this chestnut grows, the oriental chestnut gall wasp, the sole host of this entomophage, has been successfully acclimatized. Therefore, it can be assumed with high confidence that torymus will establish in the range of its target host.

It is impossible to introduce torymus at once in all the territory where the gall wasp is present so far, therefore it is necessary to estimate probability of its spreading in the host's range.

After the first discovery of the oriental chestnut gall wasp in 2016 on the territory of Russia, it has already in 3 years virtually expanded all places of growth of sweet chestnut. Therefore, there are no obstacles for the torymus to settle after its host in all those places where sweet chestnut occurs. In other European countries where the torymus was introduced as an BCA, it expanded all the areas where chestnut grows.

The risk of introduction of torymus is that it may have an impact on other non-targeted insects, so the next step of the analysis is to assess the probability of non-targeted impact of the agent in the risk assessment area.

European authors studying torymus at the places of its introduction do not point to its ability to parasitize other insects. There are no other gall wasps on chestnuts in the ERA area. However, together with the sweet chestnut, there are several species of oaks on

в такие европейские страны, как Италия, Греция, Словения, Венгрия и др., а также в Турцию. Таким образом, вторичный (инвазионный) ареал торимуса в настоящее время не менее обширен, чем его первичный, природный ареал в Восточной Азии.

Нет никаких препятствий для того, чтобы торимус смог успешно акклиматизироваться на Черноморском побережье Краснодарского края и в Республике Адыгея в местах произрастания каштана посевного. Во всех местах произрастания этого каштана успешно акклиматизировалась восточная каштановая орехотворка – единственный хозяин этого энтомофага. Следовательно, можно с высокой степенью уверенности полагать, что торимус успешно акклиматизируется в ареале своего целевого хозяина.

Вселить торимуса сразу на всю территорию, где к настоящему времени обособилась орехотворка, невозможно, поэтому необходимо оценить вероятность его распространения в ареале хозяина.

После первого обнаружения в 2016 г. восточной каштановой орехотворки на территории России, она уже через 3 года освоила фактически все места произрастания каштана посевного. Поэтому нет препятствий и для торимуса вслед за своим хозяином расселиться во всех тех местопроизрастаниях, в которых встречается каштан посевной. В других европейских странах, куда торимус был интродуцирован в качестве АБЗ, он осваивал все места произрастания каштана.

Опасность интродукции торимуса состоит в том, что он может оказать нецелевое воздействие на других насекомых, поэтому следующим шагом анализа является оценка вероятности нецелевого воздействия агента в зоне оценки риска.

Европейские авторы, занимающиеся изучением торимуса в местах его интродукции, не указывают на его способность паразитировать на других насекомых. В зоне АЭР на каштане отсутствуют другие орехотворки. Однако совместно с каштаном посевным произрастает несколько видов дубов, на которых имеется несколько видов орехотворок. В частности, встречаются такие виды, как яблоковидная, нумизматическая и ряд других. Все они являются незначительными вредителями дубов, заметного вреда не причиняют. Именно с этих орехотворок на восточную каштановую орехотворку переходит несколько видов паразитоидов, которые, однако, не могут регулировать численность ее особей.

Теоретически торимус, в случае его интродукции, может рассматриваться как возможный конкурент местных паразитоидов в освоении местных же видов орехотворок. Однако сведений о подобной конкуренции из европейских стран нет. Также нет данных о том, что торимус может переносить некие патогены, опасные для местных энтомофагов.

Имеются сведения о том, что *T. sinensis* может давать плодовые гибриды с аборигенными представителями рода *Torymus*. Однако роль местных представителей этого рода в жизни лесных сообществ крайне невелика. Вместе с тем данный вопрос нуждается в более глубоком изучении. Обзор европейских видов рода *Torymus* [7] показал, что в Европе обитает порядка 200 видов этого рода, поэтому не исключено, что с некоторыми из них может быть получено плодородное потомство.



Рис. 4. Личинки и свежая куколка орехотворки внутри галла (фото Ю.И. Гниненко)

Fig. 4. Larvae and a new pupa of chestnut wasp inside a gall (photo by Yu.I. Gninenko)

which there are several species of gall wasps. In particular, there are such species as oak cherry-gall wasp, silk button gall wasp and others. All of them are minor pests of oaks, do not cause noticeable damage. These are the gall wasps from which several species of parasitoids move to the oriental chestnut gall wasp. And these parasitoids can not regulate the number of species of the oriental chestnut gall wasps.

Theoretically, torymus, in case of its introduction, can be considered as a possible competitor of local parasitoids in the development of local species of gall wasps. However, there is no information about such competition from European countries. There is also no evidence that torymus may carry certain pathogens that are dangerous for local entomophages.

There is evidence that *T. sinensis* may provide fertile hybrids with aboriginal species of the genus *Torymus*. However, the role of local species of this genus in forest communities is extremely small. Meanwhile, the issue needs to be studied deeper. The review of the European species of the genus *Torymus* [7] showed that there are about 200 species of this genus in Europe, so it is not excluded that some of them can produce fertile offspring.

Thus, the ecological risks of the introduction of torymus are minimal and consist only in the fact that at present time on the territory of Russia the ability of *T. sinensis* to give fruitful offspring with local species of this genus remains unexplored.

Таким образом, экологические риски интродукции торимуса минимальны и заключаются только в том, что в настоящее время на территории России остается неизученной способность *T. sinensis* давать плодородное потомство с местными представителями этого рода.

Проведенный экспресс-анализ однозначно показывает, что риск от интродукции торимуса в леса Черноморского побережья Кавказа минимален. Есть еще одна причина того, что интродукция указанного энтомофага как некое целенаправленное действие не несет каких-либо неожиданных последствий. Эта причина в том, что в Турции активно используют торимуса для защиты каштана, и рано или поздно он в любом случае самостоятельно появится на нашей территории. Но такое его появление может произойти поздно, то есть тогда, когда мы утратим большую часть каштана посевного.

Заключительной частью АЭР является принятие решения о возможности интродукции.

Согласно процедуре принятия решения перед самым решением следует ответить предварительно на 2 вопроса:

- Вероятно ли, что АБЗ окажет положительное воздействие на окружающую среду в зоне оценки риска путем сокращения целевых популяций вредителя и/или предотвращения/сокращения обработки/процедур защиты растений?

- Может ли положительное воздействие агента на окружающую среду в зоне оценки риска значительно превышать негативное воздействие на окружающую среду?

На первый вопрос ответ такой: торимус, как АБЗ от восточной каштановой орехотворки, **несомненно окажет положительное воздействие** на окружающую среду, так как его деятельность приведет к существенному сокращению численности особей вредителя, что предотвратит ослабление каштана и позволит не только сохранить его, но и возобновить получение каштанового меда.

На второй из поставленных вопросов можно ответить, что положительная сторона деятельности АБЗ в зоне АЭР **значительно превышает возможное его отрицательное влияние** на окружающую среду.

Ответы на оба поставленных вопроса однозначно свидетельствуют в пользу интродукции торимуса. Оба ответа не требуют уточнений, и их однозначное свидетельство в пользу интродукции этого АБЗ позволяет отказаться от полной оценки и принять следующее решение:

торимус, как АБЗ от восточной каштановой орехотворки, вряд ли представляет риск для зоны оценки риска, или риск, вероятно, будет компенсирован положительным воздействием на окружающую среду от интродукции агента. Оценка может быть остановлена, а завоз и выпуски могут быть рекомендованы.

Проведенный АЭР позволяет считать, что:

- вероятность успешной акклиматизации торимуса в местах инвазии восточной каштановой орехотворки в зоне произрастания каштана посевного весьма велика;

- есть основания считать, что вероятность распространения агента в зоне оценки риска также весьма велика, поэтому выпуск торимуса в нескольких пунктах Черноморского побережья

The express assessment clearly shows that the risk from the introduction of torymus into the forests of the Black Sea coast of the Caucasus is minimal. There is one more reason why the introduction of this entomophage as some kind of goal-oriented action does not have any unexpected consequences. This reason is that in Turkey torymus is actively used to protect chestnut, and sooner or later it will appear on our territory on its own in any case. However, it can happen too late, i. e. when we lose most of the sweet chestnut.

The final part of the ERA is to make a decision about the possibility of introduction.

According to the decision-making procedure, 2 questions should be answered before the decision itself:

- Is BCA likely to have a positive impact on the environment in the risk assessment area by reducing target populations of pest and/or preventing/reducing treatments/plant protection procedures?

- Can a positive impact of the agent on the environment in the risk assessment area be significantly greater than the negative impact on environment?

The answer to the first question is as follows: torymus like BCA of the oriental chestnut gall wasp will **undoubtedly have a positive impact on the environment**, as its activity will lead to a significant reduction in the number of pest, which will prevent the weakening of the chestnut and allow not only to preserve it, but also to resume getting of chestnut honey.

The second question can be answered that the positive side of BCA activity in the ERA area will **significantly exceed its possible negative impact** on the environment.

The answers to both questions clearly indicate in favor of the introduction of the torymus. Both answers do not require any clarification and their firm evidence in favor of the introduction of BCA makes it possible to abandon the full assessment and make the following decision:

The torymus, as BCA of the oriental chestnut gall wasp, is unlikely to pose a risk to the risk assessment area, or the risk is likely to be offset by the positive impact on the environment from the introduction of the agent. The assessment may be halted and introduction and release may be recommended.

Conducted ERA allows us to believe that:

- the probability of successful acclimatization of torymus in places of the oriental chestnut gall wasp invasion in the zone of sweet chestnut growth is very high;

- there are reasons to believe that the probability of the agent spread in the risk assessment area is also very high, so the release of the torymus in several points of the Black Sea coast of Krasnodar Region will certainly lead to the fact that BCA will expand the territories where the sweet chestnut grows and which the oriental chestnut gall wasp has invaded.

Therefore, the introduction of torymus into the places of invasion of the oriental chestnut gall wasp will prevent the deterioration of the sweet chestnut, restore the level of collection of chestnut honey and marrons (nuts), which will have a positive impact not only

Краснодарского края обязательно приведет к тому, что АБЗ освоит все территории, где произрастает каштан посевной и куда проникла восточная каштановая орехотворка.

Следовательно, интродукция торимуса в места инвазии восточной каштановой орехотворки позволит предотвратить ухудшение состояния каштана посевного, восстановить уровень сбора каштанового меда и морронов (орешков), что будет иметь положительное влияние не только с экологической стороны, но и в социальном плане. Также завоз *T. sinensis* сократит до хозяйственно несущественного уровня ущерб от инвайдера и в конечном результате позволит начать восстановление каштановых древостоев на Кавказе.

В заключение можно констатировать, что предложенная схема принятия решения по стандарту ЕОКЗР РМ 6/4 вполне приемлема для оценки экологических рисков, связанных с интродукцией агентов биологической защиты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенный анализ экологического риска интродукции *T. sinensis* в леса с участием каштана посевного, в которых произошло вселение нового опасного фитофага – восточной каштановой орехотворки, показал, что:

- интродукция торимуса не несет сколько-нибудь существенной экологической угрозы;
- без использования торимуса в качестве агента биологической защиты невозможно обеспечить не только сохранение уровня получения меда и урожая орешков каштана, но и сохранение каштана посевного как важной лесообразующей породы в лесах региона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гниненко Ю.И., Мелика Ж.Г. Каштановая орехотворка *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu новый опасный вредитель каштана посевного. – М.: ВНИИЛМ, 2011. – 14 с.

2. Гниненко Ю.И., Лянгузов М.Е. Восточная каштановая орехотворка *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) – новый инвайдер в лесах Северного Кавказа // Российский журнал биологических инвазий. – 2017. – Т. 10, № 2. С. 13–19.

3. ГОСТ 33828-2016 «Защита растений. Требования к обороту агентов биологической борьбы и других полезных организмов».

4. Стандарт ЕОКЗР РМ 6/4 «Схема принятия решения для ввоза и выпуска агентов биологической борьбы с вредителями растений».

5. Aebi A., Schönrogge K., Melika G., Alma A., Bosio G., Quacchia A., Picciau L., Abe Y., Moriya S., Yara K., Seljak G. & Stone G. Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* // In: Ozaki K., Yukawa J., Ohgushi T. & Price P.W. (eds.) *Galling arthropods and their associates: ecology and evolution*. – Springer, Tokyo: 2006. – P. 103–121.

6. Gninenko Y.I., Melika G., Ljanguzov M. Szelid-gesztenye gubacsdarázs (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951) (Hymenoptera, Cynipidae) megejelenése Oroszországban // *Növényvédelmi Tudományos Napok*. – Budapest. – 2017. – P. 27.

7. Graham M.W.R. de Vere, Gijswijt M.J. Revision of the European species of *Torymus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae) // *Zool. Verh. Leiden*. 1998; 317: 1–202.

in terms of the environment, but also in social term. Also, the introduction of *T. sinensis* will reduce the damage from the invader to an economically insignificant level and will eventually allow the restoration of chestnut forest stands in the Caucasus to begin.

In conclusion, it can be stated that the proposed decision making scheme according to the EPPO Standard PM 6/4 is quite acceptable for the assessment of environmental risks associated with the introduction of biological control agents.

CONCLUSION

Conducted environmental risk assessment of introduction of *T. sinensis* into the forests where the sweet chestnut is present, and where the introduction of a new dangerous phytophage pest, the oriental chestnut gall wasp, occurred, showed that:

- The introduction of torymus does not pose any significant environmental threat;
- without the use of torymus as a biological control agent, it is impossible to ensure not only the preservation of the level of honey production and the harvest of chestnuts, but also the preservation of the sweet chestnut as an important forest-forming species in the forests of the region.

REFERENCES

1. Gninenko Yu.I., Melika J.G. The chestnut gall wasps *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu is the new dangerous pest of the sweet chestnut [Kashtanovaia orekhotvorka *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu novyj opasnyj vreditel kashtana posevnogo]. M: VNIILM, 2011. 14 p. (In Russian).

2. Gninenko Yu.I., Lyanguzov M.E. The oriental chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) – new invader in the forests of the North Caucasus [Vostochnaia kashtanovaia orekhotvorka *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951 (Hymenoptera, Cynipidae) – novyj invajder v lesakh Severnogo Kavkaza]. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2017; 10 (2): 13–19 (In Russian).

3. GOST 33828-2016 “Plant protection. Requirements to turnover of biological control agents and other useful organisms” (In Russian).

4. EPPO Standard PM 6/4 Decision-support scheme for import and release of biological control agents of plant pests.

5. Aebi A., Schönrogge K., Melika G., Alma A., Bosio G., Quacchia A., Picciau L., Abe Y., Moriya S., Yara K., Seljak G. & Stone G. Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus*. In: Ozaki K., Yukawa J., Ohgushi T. & Price P.W. (eds.) *Galling arthropods and their associates: ecology and evolution*. Springer, Tokyo; 2006: 103–121.

6. Gninenko Y.I., Melika G., Ljanguzov M. Szelid-gesztenye gubacsdarázs (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, 1951) (Hymenoptera, Cynipidae) megejelenése Oroszországban. *Növényvédelmi Tudományos Napok*. Budapest; 2017: 27.

7. Graham M.W.R. de Vere, Gijswijt M.J. Revision of the European species of *Torymus* Dalman (Hymenoptera: Torymidae). *Zool. Verh. Leiden*. 1998; 317: 1–202.

(Hymenoptera: Torymidae) // *Zool. Verh. Leiden*. – 1998. – Vol. 317. – P. 1–202.

8. Kamijo K. Pteromalid wasps (Hymenoptera) reared from cynipid galls on oak and chestnut in Japan, with descriptions of four new species // *Kontyu*. 1981. – Vol. 49. – P. 272–282.

9. Kamijo K. Two new species of *Torymus* (Hymenoptera, Torymidae) reared from *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in China and Korea // *Kontyu*. 1982. – Vol. 50. – P. 505–510.

10. Kos K., Kriston E. & Melika G. Invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), its native parasitoid community and association with oak gall wasps in Slovenia // *Eur. J. Entomol.* – 2015. – Vol. 112, No. 4. – P. 698–704.

11. Matošević D., Quacchia A., Kriston É., Melika G. Biological Control of the Invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) – an Overview and the First Trials in Croatia // *South-East European Forestry*. – 2014. – Vol. 5, No. 1. – P. 3–12.

12. Melika G., Bozsó M., Schwéger Sz., Krocskó G., Juhász E., Kriston É., Krizbai L. Biological control of the invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in Hungary // *Hungarian Agricultural Research*. – 2017. – Vol. 4 (December). – P. 16–23.

13. Moriya S., Inoue K., Mabuchi M. The use of *Torymus sinensis* (Hymenoptera, Torymidae) for controlling the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Japan // FFTC-NARC International Seminar on “The use of parasitoids and predators to control agricultural pests”. – 1990. – P. 21.

14. Yasumatsu, K., Kamijo K. Chalcidoid parasites of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Cynipidae) in Japan, with descriptions of five new species (Hymenoptera) // *Esakia*. – 1979. – Vol. 14. – P. 93–111.

8. Kamijo K. Pteromalid wasps (Hymenoptera) reared from cynipid galls on oak and chestnut in Japan, with descriptions of four new species. *Kontyu*. 1981; 49: 272–282.

9. Kamijo K. Two new species of *Torymus* (Hymenoptera, Torymidae) reared from *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in China and Korea. *Kontyu*. 1982; 50: 505–510.

10. Kos K., Kriston E. & Melika G. Invasive chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae), its native parasitoid community and association with oak gall wasps in Slovenia. *Eur. J. Entomol*. 2015; 112 (4): 698–704.

11. Matošević D., Quacchia A., Kriston É., Melika G. Biological Control of the Invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) – an Overview and the First Trials in Croatia. *South-East European Forestry*. 2014; 5 (1): 3–12.

12. Melika G., Bozsó M., Schwéger Sz., Krocskó G., Juhász E., Kriston É., Krizbai L. Biological control of the invasive *Dryocosmus kuriphilus* (Hymenoptera: Cynipidae) in Hungary. *Hungarian Agricultural Research*. 2017; 4 (December): 16–23.

13. Moriya S., Inoue K., Mabuchi M. The use of *Torymus sinensis* (Hymenoptera, Torymidae) for controlling the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Japan. FFTC-NARC International Seminar on “The use of parasitoids and predators to control agricultural pests”. 1990: 21.

14. Yasumatsu, K., Kamijo K. Chalcidoid parasites of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Cynipidae) in Japan, with descriptions of five new species (Hymenoptera). *Esakia*. 1979; 14: 93–111.

Повилики естественных и антропогенно измененных сообществ Пензенской области и возможные биологические агенты их контроля

Е.А. СУХОЛОЗОВА, к. б. н., младший научный сотрудник Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: e_kobozeva@mail.ru

Е.А. СУХОЛОЗОВ, к. б. н., государственный инспектор Управления Россельхознадзора по Республике Мордовия и Пензенской области, e-mail: e.sukholozov@mail.ru

А.В. САФОНОВ, директор Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР», e-mail: av.safonov@list.ru

Аннотация. В статье представлены результаты видовой и фитосанитарной ревизии повилик Пензенской области. Установлено произрастание на территории региона 3 видов рода *Cuscuta*. Из них только повилика полевая – адвентивный вид, приуроченный исключительно к антропогенно измененным сообществам, в отличие от повилик европейской и хмелевидной, произрастающих в естественных пойменных фитоценозах. Представлены итоги изучения влияния представителей рода *Smicronyx* на повилики разных сообществ. Показана низкая значимость изученных долгоносиков как возможных биологических агентов контроля повилики.

Ключевые слова. Повилики, естественные и антропогенно измененные сообщества, регуляция численности, долгоносики.



ВВЕДЕНИЕ

Повилики (*Cuscuta* spp.) – сложный в таксономическом отношении род цветковых растений, объединяющий около 200 видов преимущественно однолетних растений [4, 6, 7, 9, 14, 17]. Все без исключения представители рода – облигатные паразиты высших растений. Ущерб, наносимый повиликами в агроценозах, угроза дальнейшего распространения наряду с трудностями иденти-

Dodders of natural and anthropogenically modified coenoses in Penza region and their possible biological control agents

E.A. SUKHOLOZOVA, PhD in Biological Sciences, Junior Researcher of the Penza branch of FGBU "VNIICR", e-mail: e_kobozeva@mail.ru

E.A. SUKHOLOZOV, PhD in Biological Sciences, State Inspector of the Rosselkhoznadzor Directorate for the Republic of Mordovia and the Penza Region, e-mail: e.sukholozov@mail.ru

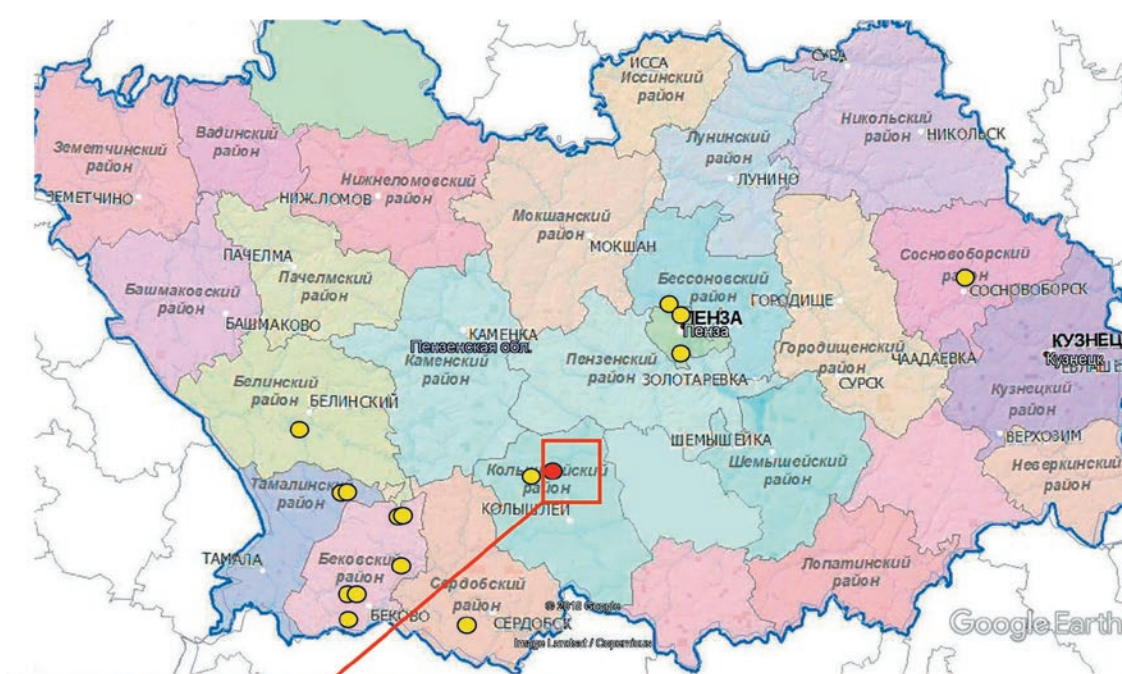
A.V. SAPHONOV, Director of the Penza branch of FGBU "VNIICR", e-mail: av.safonov@list.ru

Abstract. The article presents the results of dodder species and phytosanitary review in the Penza Region. It was determined that 3 species of the genus *Cuscuta* grow in this region where American field dodder is the only adventive species confined exclusively to anthropogenically modified coenoses, as opposed to greater dodder and hop dodder, which grow in natural floodplain phytocoenoses. The article describes what impact species of the genus *Smicronyx* have on dodders of different coenoses. It also shows that studied weevils have low importance as possible biological control agents of dodders.

Keywords. Dodders of natural and anthropogenically modified coenoses, population control, weevils.

INTRODUCTION

Dodders (*Cuscuta* spp.) are a taxonomically complex genus of flowering plants covering about 200 species of primarily annual plants [4, 6, 7, 9, 14, 17]. Any and all representatives of the genus are obligatory pa-



Условные обозначения

- - ценопопуляции *Cuscuta campestris*
- - ценопопуляции *Cuscuta europaea*
- - ценопопуляции *Cuscuta lupuliformis*

Рис. 1. Местонахождение исследованных ценопопуляций повилики (2019 г.)

Fig. 1. Location of the studied dodder coenopopulations (2019)

фикации повилик до вида по семенам [6] способствовали включению всего рода в перечень карантинных объектов РФ. Однако степень влияния видов повилик на сообщества разная, и многие из них не являются для конкретных территорий инвазионными видами. В связи с этим представляется перспективным проведение региональной ревизии видового состава повилик, с одной стороны, и определение их принадлежности к опасным сорным видам агроценозов или к аборигенным видам естественных сообществ, с другой стороны. Такая видовая и фитосанитарная ревизия поможет, в свою очередь, в каждом конкретном случае правильно подобрать соответствующие методы контроля численности повилики.

До сих пор главными способами борьбы с повиликами в агроценозах остаются агротехнические, профилактические и особенно химические мероприятия [8, 9, 10]. Эффективные приемы биологической борьбы в России остаются пока не разработанными. Поэтому поиск биологических объектов,

parasites of higher plants. Dodders cause major damage in agrocoenoses, can possibly distribute further, and are difficult to identify to a species level by seeds [6]. This contributed to the fact that the whole genus was included into the list of quarantine objects of the Russian Federation. However, the degree of dodder impact on coenoses varies and many of them are not invasive species for specific areas. In this regard, it is seems promising to review the composition of dodder species in the region, on the one hand, and determine their identity to dangerous weed species of agrocoenoses or to native species of natural coenoses, on the other hand. Therefore, such species-specific and phytosanitary review will help to choose the appropriate dodder population control techniques in each specific case.

Таблица 1
Показатели ценопопуляций *Cuscuta campestris* и долгоносиков рода *Smicronyx* в разных типах местообитаний в 2019 году

Тип местообитания*	Наличие/отсутствие всапки	Размер ценопопуляции, га	Проективное покрытие <i>C. campestris</i> , %	Доля генеративных побегов с неудлиненными междоузлиями, %	Доля побегов с галлами, %	Число собранных галлов, штуки	Число развившихся стадий <i>Smicronyx</i> , штуки		
							личинки	куколки	имаго
1	–	0,003	40	50	20	30	14	12	8
2	–	0,07	50	60	20	34	19	15	14
3	+	0,13	30	70	1	9	5	3	2
4	+	0,12	50	80	0	0	–	–	–
5	–	0,04	50	70	30	47	26	21	21

* Тип местообитания: 1 – обочина автодороги, 2 – обочина полевой дороги, 3 – окраина поля пшеницы (молочной), 4 – окраина поля пшеницы (восковой спелости), 5 – окраина залежи.

способных контролировать численность ценопопуляций *Cuscuta* в условиях разных сообществ, актуален. С повиликами тесно связана жизнедеятельность 8 из 10 зарегистрированных в России [11] видов мелких долгоносиков (Curculionidae) – представителей рода *Smicronyx*. Это фитофаги, способные к галлообразованию на повиликах [1, 2, 18]. Их роль в регулировании численности ценопопуляций *Cuscuta* оценивается по-разному. Долгоносики этого рода рассматриваются и как возможные агенты биологической борьбы [15, 16, 18], и, наоборот, как симбионты своих кормовых растений, увеличивающие их фотосинтетическую активность (!) и, следовательно, приносящие им пользу [1, 2, 3]. В связи с этим изучение биологии рода *Smicronyx*, приуроченности его представителей к конкретным видам

So far, the main dodder control techniques in agro-coenoses are of agrotechnical, preventive and especially chemical nature [8, 9, 10]. Effective biological control techniques have not yet been developed in Russia. Therefore, it is relevant to search for biological objects capable of controlling *Cuscuta* coenopopulations in different coenoses. The life activity of 8 out of 10 species of small weevils (Curculionidae), which represent the genus *Smicronyx* and are registered in Russia [11], is closely associated with dodders. These are phytophages capable of forming galls in dodders [1, 2, 18]. Their role in controlling *Cuscuta* coenopopulations is estimated differently. Weevils of this genus are considered both as possible biological control agents [15, 16, 18], and, on the contrary, as symbiotes of their forage plants, increasing their photosynthetic activity (!) and, consequently,

Table 1
Indicators of coenopopulations of *Cuscuta campestris* and weevils of the genus *Smicronyx* in different habitat types in 2019

Habitat type*	Tilled/not tilled	Coenopopulation size, ha	Projective coverage <i>C. campestris</i> , %	Generative shoots with non-elongated internodes, %	Shoots with galls, %	Number of collected galls, pcs	Number of developed stages of <i>Smicronyx</i> , specimens		
							larvae	pupae	adults
1	–	0.003	40	50	20	30	14	12	8
2	–	0.07	50	60	20	34	19	15	14
3	+	0.13	30	70	1	9	5	3	2
4	+	0.12	50	80	0	0	–	–	–
5	–	0.04	50	70	30	47	26	21	21

* Habitat type: 1 – motor roadside, 2 – field roadside, 3 – wheat field edge (milky ripeness), 4 – wheat field edge (wax ripeness), 5 – fallow edge.



Рис. 2. Повилика полевая на обочине автодороги (фото авторов)
Fig. 2. American field dodder on the roadside (photo by authors)

повилик и степени влияния их жизнедеятельности на виды рода *Cuscuta* в условиях антропогенно измененных и естественных сообществ необходимо для окончательного вывода о возможности их использования для регулирования численности повилик.

РАЙОН, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили с конца июня по середину августа в 2018 и 2019 гг. в Пензенской области. Объекты исследований – виды *Cuscuta* spp., произрастающие в антропогенно измененных и естественных сообществах, и представители рода *Smicronyx*, связанные своей жизнедеятельностью с ними.

Во флоре Пензенской области в разное время указывается 6 видов повилик [5, 12]: *Cuscuta approximata* Bab., *Cuscuta epilinum* Weihe, *C. lupuliformis* Krock., *C. monogyna* Vahl, *C. europaea* L., *C. campestris* Yunc. В 2018–2019 гг. сотрудники Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР» совместно со специалистами территориального управления Россельхознадзора в рамках мониторинга карантинного фитосанитарного состояния территории области выявили и обследовали 51 очаг *Cuscuta campestris* (повилики полевой) в 8 районах области. В 2019 г. в рамках договора о научном сотрудничестве на территории ФГБУ ГПЗ «Приволжская лесостепь» (участок «Островцовская лесостепь») обнаружили и изучили ценопопуляции *Cuscuta europaea* (повилики европейской) и *C. lupuliformis* (повилики хмелевидной) (рис. 1).

Для сравнения ценопопуляций повилик использовали проективное покрытие вида в процентах, так как в природных условиях не представляется возможным установить границы особи, а значит, и установить счетную единицу, необходимую для определения популяционной структуры



Рис. 3. Повилика полевая на обочине полевой дороги (фото авторов)
Fig. 3. American field dodder on the field roadside (photo by authors)

benefiting them [1, 2, 3]. In this regard, it is necessary to study the biology of the genus *Smicronyx*, the confinedness of its representatives to specific dodder species, and how strong they influence on species of the genus *Cuscuta* under conditions of anthropogenically modified and natural coenoses. This needs to be done to make the final conclusion about whether it is possible to use them for dodder population control.

REGION, RESEARCH MATERIALS AND TECHNIQUES

The research was conducted from late June to mid-August 2018 and 2019 in the Penza Region. The objects of research are species of *Cuscuta* spp. growing in anthropogenically modified and natural coenoses, and representatives of the genus *Smicronyx* associated with their life activity.

In the flora of the Penza Region 6 dodder species were recorded at different times [5, 12]: *Cuscuta approximata* Bab., *Cuscuta epilinum* Weihe, *C. lupuliformis* Krock., *C. monogyna* Vahl, *C. europaea* L., and *C. campestris* Yunc. In 2018–2019, employees of the Penza branch of FGBU “VNIICR” together with specialists of the territorial administration of Rosselkhoznadzor detected and surveyed 51 foci of *Cuscuta campestris* (American field dodder) in 8 regional districts within the framework of monitoring of quarantine phytosanitary condition of the region’s territory. In 2019 the coenopopulations of *Cuscuta europaea* (greater dodder) and *C. lupuliformis* (hop dodder) were detected and studied (Fig. 1) within the framework of the agreement on scientific cooperation on the territory of FGBU GPZ Privolzhskaya Lesostep (Ostrovtsovskaya Lesostep section).

Таблица 2
Показатели пойменных сообществ с участием повилики европейской и хмелевидной в 2019 году

		Ручей № 1			Ручей № 2	
Показатели		Ветляник крапиво-разнотравный	Черно-ольшаник снытево-крапивный	Крапивник	Крапивник	Ветляник разнотравно-крапивный
ОПП* ярусов, %	A	50	39,2	0	0	45
	B	40	23,3	0	0	35
	C	60	75	98	94	55
Проективное покрытие, %	<i>Cuscuta europaea</i>	0	1,3	24,4	23,3	0,5
	<i>Cuscuta lupuliformis</i>	2	4,3	0	0	1,5
Число имаго долгоносиков, штуки	<i>Smicronyx smreczynskii</i>	0	0	0	14	0
	<i>Smicronyx coecus</i>	0	0	0	7	0

* ОПП – общее проективное покрытие – покрытие всего яруса.

по показателям, принятым в демографии растений (онтогенетический, виталитетный состав, плотность особей и т. д.). Дополнительно для *Cuscuta campestris* указывали процентное соотношение побегов повилики с неудлиненными междоузлиями, несущими большое число соцветий/плодов, и побегов с малым числом цветков/плодов и удлиненными междоузлиями, предназначенных для освоения территории. Всего было изучено 14 ценопопуляций повилики полевой (из 51 очага), 4 ценопопуляции – повилики европейской и 3 – п. хмелевидной (рис. 1, табл. 1–2). Картирование ценопопуляций повилик проводили с помощью навигатора Garmin 62.

Для характеристики растительных сообществ, в пределах которых произрастали повилики,

To compare dodder coenopopulations percental projective cover of the species was used, as it is not possible to establish the species boundaries in natural conditions, and therefore, to establish the calculation unit required to determine the population structure according to the indicators adopted in plant demography (ontogenetic and vitality composition, species density, etc.). In addition, the percentage of dodder shoots with non-elongated internodes with many inflorescences/fruits and shoots with a few flowers/fruits and elongated internodes intended for area colonization was indicated for *Cuscuta campestris*. In total, 14 coenopopulations of American field dodder (out of 51 foci), 4 coenopopulations of greater dodder and 3 coenopopulations of hop dodder were studied (Fig. 1, Table 1–2).

Table 2
Indicators of floodplain coenoses with greater dodder and hop dodder in 2019

		Stream 1			Stream 2	
Indicators		Willow forest with nettle and various grasses	Black alder forest with goutweed and nettle	Nettle-dominated community	Nettle-dominated community	Willow forest with various and nettle grasses
GPC* of layers, %	A	50	39.2	0	0	45
	B	40	23.3	0	0	35
	C	60	75	98	94	55
Projective coverage, %	<i>Cuscuta europaea</i>	0	1.3	24.4	23.3	0.5
	<i>Cuscuta lupuliformis</i>	2	4.3	0	0	1.5
Number of weevil adults, specimens	<i>Smicronyx smreczynskii</i>	0	0	0	14	0
	<i>Smicronyx coecus</i>	0	0	0	7	0

* GPC – general projective coverage, coverage of the full layer.



Рис. 4. Повилика полевая на окраине поля пшеницы (фото авторов)

Fig. 4. American field dodder on the wheat field edge (photo by authors)

выполнены геоботанические описания по общепринятым методикам с указанием всех видов растений-хозяев.

Все изученные ценопопуляции *Cuscuta* исследовали на присутствие представителей рода *Smicronyx*. Найденных личинок долгоносиков собирали и дорастивали в лабораторных условиях до имаго. Галлы на повилике собирали, измеряли и раскладывали в чашки Петри для дальнейшего наблюдения в лаборатории. В полевых условиях оценивали процентное соотношение числа побегов

The Garmin 62 navigation device was used to map dodder coenopopulations.

Plant geobotany was described to characterize the plant coenoses where dodders grew according to generally accepted techniques with indication of all host plant species.

с галлами и без них (табл. 1). Повилики, на которых были найдены личинки долгоносиков, визуально осматривали: отмечали наличие возможных следов повреждений, галлообразования, состояние генеративных органов побегов повилики и количество этих органов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

За 2018–2019 гг. на территории площадью около 269 тыс. га обследованы подкарантинные объекты: поля пшеницы, ячменя, овса, ржи, посевы сахарной свеклы, подсолнечника, кукурузы, плодовые сады, питомники, приусадебные участки, сосновые леса, обочины автомобильных и полевых дорог, территории населенных пунктов и сельхозпредприятий. Кроме перечисленных антропогенно измененных территорий исследованы естественные сообщества поймы р. Суры (ниже Сурского водохранилища, в районе с. Засечное: Присурская пойменная дубрава на правом берегу, молодые черноольшаник и ивняк – на левом берегу), поймы ручьев на территории государственного природного заповедника «Приволжская лесостепь».

Выявленные в результате проведенных исследований 3 вида повилики были приурочены к следующим сообществам. Повилика полевая: зарастающие газоны, обочины автомобильных и полевых дорог, поля пшеницы и ячменя и их обочины, края посевов сахарной свеклы, окраины залежей (рис. 2, 3, 4, 5). Повилика европейская и хмелевидная были найдены нами в поймах ручьев заповедника «Приволжская лесостепь»: в черноольшанике, ветляниках и крапивнике (табл. 2, рис. 6–7). Из антропогенно измененных сообществ лишь в одном приусадебном участке (из 80 исследованных) была зарегистрирована п. хмелевидная на малине обыкновенной и пустырнике пятилопастном.

Полученный полевой материал в целом согласуется с данными литературы [5, 12] и гербария имени И.И. Спрыгина Пензенского государственного университета. *Cuscuta campestris* выделяется как адвентивный вид, натурализовавшийся в подходящих для него местообитаниях, но не входящий в состав естественных сообществ ([5], гербарные сборы Т.В. Разживиной 2008 г.). *Cuscuta lupuliformis* – вид естественных сообществ, произрастающий в поймах рек, по лесным оврагам, приречным ивняковым зарослям [5, 12]. Обнаружение нами повилики хмелевидной на территории единственного приусадебного участка, вероятно, можно считать случайным заносом. *Cuscuta europaea*, как и предыдущий вид, произрастает преимущественно в природных сообществах: на болотистых лесных



Рис. 5. Повилика полевая на окраине залежи (фото авторов)

Fig. 5. American field dodder on the fallow edge (photo by authors)

All studied *Cuscuta* coenopopulations were checked for representatives of the genus *Smicronyx*. Detected weevil larvae were collected and grown in laboratory conditions to adults. Galls on dodders were collected, measured and placed in Petri dishes for further laboratory observation. The percentage of shoots with and without galls was estimated in field conditions (Table 1). Dodders on which weevils had been detected underwent visual examination: possible traces of lesions, gall formation, condition of generative organs of the dodder shoots and the number of these organs were considered.

RESULTS AND DISCUSSIONS

During 2018–2019 the following regulated objects were examined on the territory about 269 thousand hectares: fields of wheat, barley, oats, rye, plantings of sugar beet, sunflower, corn, orchards, nurseries, household plots, pine forests, motor and and field roadsides, areas under settlements and agricultural enterprises. In addition to the listed anthropogenically modified areas, natural coenoses of the floodplain of the river Sura (below the Sura Reservoir, in the area of the village Zasechnoye: Prisurskaya oak floodplain on the right bank, young black alder and willow forests on the left bank) and floodplains of streams in the territory of the Privolzhskaya Lesostep state nature reserve were studied.

The 3 dodder species identified during the study were confined to the following coenoses. American field dodder: overgrowing lawns, motor and field roadsides, wheat and barley fields and their edges, edges of sugar



Рис. 6. Повилика европейская в крапивнике поймы ручья (фото авторов)

Fig. 6. Greater dodder in the nettle-dominated community of the brook floodplain (photo by authors)

полянах и опушках, берегах водоемов и водотоков, в пойменных лесах рек и ручьев (гербарные сборы И.И. Спрыгина 1905–1916 гг., Е.К. Штукенберг 1910–1911 гг., А.И. Введенского 1918–1920 гг., Б.П. Сацедотова 1925 г., Е.А. Городковой 1928 г., [5]). Исследователями начала XX и XXI века отмечено, что *Cuscuta europaea* встречается также в садах (гербарные сборы Н.В. Дюкиной 1910 г., [5, 12]) и сорных местах преимущественно на крапиве (гербарный сбор А.И. Введенского 1916 г.). Однако из 28 гербарных листов этого вида повилики, собранных на территории Пензенской области в ее современных границах и хранящихся в гербарии Пензенского государственного университета, только 2 – из антропогенно измененных сообществ. В обследованных нами территориях садов, питомников, приусадебных участков и других антропогенно измененных сообществ в 2018–2019 гг. повилика европейская не выявлена.

В результате проведенных исследований на повиликах Пензенской области обнаружены 2 вида долгоносиков рода *Smicronyx*: *S. smreczynskii* Solari и *S. coecus* Reich.

В 12 из 14 исследованных ценопопуляций повилики полевой были отмечены галлы *S. smreczynskii*. За 2 года исследований собрано 420 галлов, из которых в лабораторных условиях вышли 223 личинки, превратившиеся в 169 куколок, 155 из которых достигли стадии имаго. Развитие личинки до окукливания происходило за 5–10 дней. Куколка превращалась в имаго за 6–12 дней (рис. 8). Отмечено, что помимо долгоносиков из галлов выходил целый комплекс насекомых, среди которых были представители Hymenoptera, Chalcidoidea (паразиты долгоносиков, из-за которых погибали многие личинки) и другие [1].

beet plantings, and fallow edges (Figures 2, 3, 4, 5). Greater dodder and hop dodder were found in floodplains of streams of Privolzhskaya Lesostep nature reserve in black alder, willow forests, and nettle-dominated communities (Table 2, Fig. 6–7). Hop dodder was only recorded in one household plot (out of 80 surveyed) of all anthropogenically modified coenoses on red raspberry and *Leonurus quinquelobatus*.

The obtained field material is generally consistent with the reference materials [5, 12] and Sprygin Herbarium in the Penza State University. *Cuscuta campestris* is distinguished as an adventitious species, which was established in suitable habitats, but is not a part of natural coenoses ([5], herbarium collections by T.V. Razzhivina, 2008). *Cuscuta lupuliformis* is a species of natural coenoses that grows in river floodplains, along forest ravines and riverside willow forests [5, 12]. Hop dodder detected in a single household plot can probably be considered as introduced accidentally. *Cuscuta europaea*, like the previous species, grows mainly in natural coenoses on swampy forest glades and edges, banks of water bodies and water courses, in floodplain stands of rivers and streams (herbarium collections of I.I. Sprygin, 1905–1916, E.K. Shtukenberg, 1910–1911, A.I. Vvedenskii, 1918–1920, B.P. Satserdotov, 1925, E.A. Gorodkova, 1928, [5]). Researchers of the early twentieth and twenty-first centuries noted that *Cuscuta europaea* is also found in the gardens (herbarium collections of N.V. Diukina, 1910, [5, 12]) and in weedy areas mostly on nettles (herbarium collections

На основе наблюдений, анализа и обобщения полевых данных выделено 5 типов местообитаний сосуществования *Cuscuta* – *Smicronyx* [13].

1. Обочина автодороги. Ценопопуляции *C. campestris* в таких сообществах самые маленькие по размеру, расположены «пятнами» вдоль дороги. Растения-хозяева (*Polygonum aviculare* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Setaria pumila* L., *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., *Medicago lupulina* L. и др.) низкорослые и часто обкошенные. В таких условиях произрастания повилике полевой не хватает питательных веществ с одного растения-хозяина, и она стремится освоить новую территорию, поэтому значительное число побегов повилики были с удлинёнными междоузлиями и с меньшим числом соцветий в сравнении с другими ценопопуляциями. Кроме того, 20% побегов повилики были подвержены галлогенезу (табл. 1). В таких условиях следует ожидать уменьшения потенциальной семенной продуктивности повилики, так как большая часть пластических веществ расходуется на рост побегов для поиска новых растений-хозяев (рис. 2, табл. 1).

2. Обочина полевой дороги. Занимаемая ценопопуляцией повилики площадь больше, чем на обочинах автодорог, доля побегов с галлами такая же, а проективное покрытие генеративных побегов с неудлиненными междоузлиями выше (табл. 1, рис. 3). Это можно объяснить присутствием большего числа потенциальных растений-хозяев, с их значительным проективным покрытием, что в свою очередь обусловлено отсутствием частого скашивания, как на обочинах автодорог.

3 и 4. Краины полей пшеницы (табл. 1, рис. 4). Исследованы поля пшеницы молочной (237 га) и восковой спелости (188 га). Повилика полевая встречалась по краю полей на территории 0,12 и 0,13 га соответственно. Она отмечена не только на растениях, засоряющих посевы (*Erigeron canadensis* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L., *Lactuca serriola* L., *Setaria pumila* L., *Malva pusilla* Sm., *Delphinium consolida* L., *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia vulgaris* L., *Tanacetum vulgare* L., *Cirsium setosum* (Willd.) Besser и др.) (рис. 4), но и на самой пшенице (!). Отличие 3-го и 4-го типа местообитаний – в числе сорных растений, встречающихся в посевах. Проективное покрытие повилики выше в местообитаниях с большим числом сорняков, а значит, растений-хозяев. При этом повилика обильно цветет; а галлообразование, в отличие от других местообитаний, зарегистрировано крайне редко или не обнаружено совсем (табл. 1). Последний факт обусловлен особенностями развития *Smicronyx*. Известно, что его личинка окукливается в земле [15, 18], потому пахотные работы препятствуют устойчивому сохранению *Smicronyx* на территории полей, а единичные случаи нахождения галлов на повилике обусловлены скорее миграцией имаго с неспахиваемых обочин полевых дорог.

5. Краина залежи (рис. 5, табл. 1). Из-за отсутствия какой-либо хозяйственной обработки территории в течение ряда лет в ценопопуляциях повилики увеличился процент побегов с галлогенезом, но при этом повилика обильно цветет и плодоносит. Вероятно, отсутствие обратной зависимости интенсивности цветения и плодоношения от доли

of A.I. Vvedenskii, 1916). However, only 2 out of 28 herbarium leaves of this dodder species collected in the territory of the Penza Region within its current borders and maintained in the herbarium of the Penza State University are from anthropogenically modified coenoses. Greater dodder was not detected in the surveyed gardens, nurseries, homestead plots, and other anthropogenically modified coenoses in 2018–2019.

As a result of our studies, 2 species of weevils of the genus *Smicronyx* were found in the Penza Region: *S. smreczynskii* Solari and *S. coecus* Reich.

Galls of *S. smreczynskii* were observed in 12 out of 14 studied dodder coenopopulations. 420 galls were collected over the study period which lasted for 2 years. 223 larvae emerged out of them in laboratory conditions, which turned into 169 pupae, 155 of which became adults. Larvae developed for 5–10 days before pupation. Pupae turned into adults in 6–12 days (Fig. 8). It was noted that in addition to weevils, a whole complex of insects, including representatives of Hymenoptera, Chalcidoidea (weevil parasites that killed many larvae), and other orders emerged from galls [1].

Based on the observations, analysis and generalization of field data, 5 co-existence habitat types of *Cuscuta* – *Smicronyx* were identified [13].

1. Motor roadside. *C. campestris* coenopopulations in such coenoses are the smallest, located in spots along the road. Host plants (*Polygonum aviculare* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Setaria pumila* L., *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., *Medicago lupulina* L., etc.) are low and often mowed. Under such conditions, American field dodder lacks nutrients from one host plant and tends to colonize a new territory. Thus, a significant number of dodder shoots had with elongated internodes and fewer inflorescences compared to other coenopopulations. Besides, galls formed in 20% of dodder shoots (Table 1). Under such conditions, one should expect a decrease in the potential dodder seed productivity, because the majority of macronutrients are used for the growth of shoots to find new host plants (Fig. 2, Table 1).

2. Field roadside. The area occupied by the dodder coenopopulation is larger than on the motor roadsides. The percentage of shoots with galls is the same, and the projective coverage of generative shoots with non-elongated internodes is higher (Table 1, Fig. 3). This can be explained by a greater number of potential host plants, with their significant projective coverage (Table 1), which in its turn is caused by the absence of frequent mowing, as on motor roadsides.

3 and 4. Wheat field edges (Table 1, Fig. 4). The fields of wheat of milky ripeness (237 ha) and waxy ripeness (188 ha) were studied. American field dodder was found along the edge of fields on the area of 0.12 and 0.13 ha, respectively. It was detected on plants, overgrowing plantings (*Erigeron canadensis* L., *Amaranthus retroflexus* L., *Plantago major* L., *Lactuca serriola* L., *S. glauca* (L.) Beauv., *Setaria pumila* L., *Malva pusilla* Sm., *Delphinium consolida* L., *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia vulgaris* L., *Tanacetum vulgare* L., *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, etc.) (Fig. 4), as well as wheat itself (!). The difference between the 3rd and 4th type of habitats is in the number the weed plants found

побегов с галлами обусловлено формой существования повилики – паразитизмом: чем больше галлов образует долгоносик, используя пластические вещества повилики, тем она больше забирает питательных веществ у растения-хозяина. В связи с этим, если растений-хозяев много и они хорошо развиты (как на залежи), повилика никак не реагирует на обилие долгоносиков и полноценно развивается сама. Если же растений-хозяев мало и они угнетённые (как в случае с регулярно обкашиваемой обочинной дороги), большое число галлов может отрицательно сказаться и на повилике из-за нехватки пластических веществ.

Из 4 изученных ценопопуляций повилики европейской только в 1 были найдены и собраны личинки долгоносиков, из которых в лаборатории вывелись 14 имаго *S. smreczynskii* и 7 имаго *S. coecus* Reich. Эта ценопопуляция, приуроченная к крапивнику, одна из самых многочисленных

in plantings. Projective coverage of the dodder is higher in habitats with larger number of weeds, and therefore, host plants (Table 1). At the same time, dodder blossoms abundantly and formation of galls, unlike in other habitats, is recorded very rarely or not recorded at all (Table 1). The latter fact is due to peculiarities of *Smicronyx* genus development. Its larvae are known to pupate in the ground [15, 18]. Therefore, tilling impedes sustainable conservation of *Smicronyx* species within the field, and sporadic cases of gall detection on dodder are more likely to be attributed to adults migrating from non-tillaged field roadsides.

5. Fallow edge (Fig. 5, Table 1). Due to the lack of any territory processing, the percentage of shoots with galls has increased over the years in dodder coenopopulations, but dodder blossoms and bears fruits abundantly. It is likely that the lack of inverse correlation between the intensity of blossoming and fruit-bearing processes and the proportion of shoots with galls is due to the

form of dodder existence – parasitism: the more galls a weevil forms using dodder macronutrients, the more nutrients it takes from the host plant. In this regard, if there are many host plants and they are well-developed (as on fallows), dodder does not respond to the abundance of weevils in any way and fully develops by itself. If the host plants are few and they are stunted (as in the case of regularly mowed roadside), a large number of galls can negatively impact dodder due to lack of macronutrients.

1 out of 4 studied coenopopulations of greater dodder was recorded and weevil larvae were collected, of which 14 adults of *S. smreczynskii* and 7 adults of *S. coecus* Reich emerged in the laboratory. This coenopopulation, confined to the nettle-dominated community, is one of the most numerous and abundantly fruit-bearing (Table 2). It was represented by plants with no visible damage to vegetative and generative organs and no traces of gall formation. It follows that the weevils detected had no significant negative impact on the condition of *C. europaea* coenopopulation.

Representatives of the genus *Smicronyx* were not found on hop dodder in any of the coenoses under study (Table 2). *C. lupuliformis* grew most abundantly in dense coenoses: in black alder and willow forests (Table 2). It is known, that in its ontogenesis hop dodder must develop both on woody and on herbaceous plants [6, 9]. In our



Рис. 7. Ветляник поймы ручья (а) с участием повилики хмелевидной (б) (фото авторов)

Fig. 7. Willow forest of the brook floodplain (a) with hop dodder (b) (photo by authors)

и обильно плодоносящих (табл. 2), была представлена растениями без видимых повреждений вегетативных и генеративных органов и следов галлообразования. Из этого следует, что никакого значительного отрицательного влияния на состояние ценопопуляции *C. europaea* найденные долгоносики не оказывали.

На повилике хмелевидной представители рода *Smicronyx* ни в одном из изученных сообществ не обнаружены (табл. 2). *C. lupuliformis* наиболее обильно произрастала в сомкнутых сообществах: в черноольшанике и ветляниках (табл. 2). Известно, что в своем онтогенезе повилика хмелевидной необходимо развиваться как на древесных, так и на травянистых растениях [6, 9]. В наших исследованиях *C. lupuliformis* паразитировала на молодых ветвях *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Acer negundo* L., *Salix fragilis* L., входивших в состав яруса В, на подросте *Padus avium* Mill., *Rubus caesius* L. яруса С и 19 видах травянистых растений (*Aegopodium podagraria* L., *Arctium tomentosum* Mill., *Aristolochia clematidis* L., *Artemisia vulgaris* L., *Campanula rapunculoides* L., *Carduus crispus* L., *Chenopodium album* L., *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & Gray, *Epilobium roseum* Schreb., *Festuca gigantea* (L.) Vill., *Glechoma hederacea* L., *Humulus lupulus* L., *Leonurus quinquelobatus* Gilib., *Mentha arvensis* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Selinum carvifolia* (L.) L., *Solanum dulcamara* L., *Urtica dioica* L.).

researches *C. lupuliformis* parasitized on young branches of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn., *Acer negundo* L., *Salix fragilis* L., constituting layer B, on undergrowth of *Padus avium* Mill., *Rubus caesius* L. of layer C, and 19 kinds of herbaceous plants (*Aegopodium podagraria* L., *Arctium tomentosum* Mill., *Aristolochia clematidis* L., *Artemisia vulgaris* L., *Campanula rapunculoides* L., *Carduus crispus* L., *Chenopodium album* L., *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, *Echinocystis lobata* (Michx.) Torr. & Gray, *Epilobium roseum* Schreb., *Festuca gigantea* (L.) Vill., *Glechoma hederacea* L., *Humulus lupulus* L., *Leonurus quinquelobatus* Gilib., *Mentha arvensis* L., *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud., *Selinum carvifolia* (L.) L., *Solanum dulcamara* L., *Urtica dioica* L.).

CONCLUSIONS AND SUMMARY

1. 3 out of 6 dodder species ever found in the flora of the region have been found and studied: *Cuscuta campestris*, *C. europaea*, and *C. lupuliformis*. At present 29 host plant species have been identified in the Penza Region coenoses for American field dodder, 16 for greater dodder, and 25 for hop dodder.

2. In the Penza Region, *Cuscuta campestris* coenopopulations were only found in anthropogenically modified coenoses (motor and field roadsides, overgrowing lawns, fallow edges, edges of wheat and barley fields, edges of sugar beet plantings), in contrast to *C. europaea* and *C. lupuliformis*, which grow mainly in natural coenoses of river and stream floodplains (black alder and willow forests, and nettle-dominated communities).

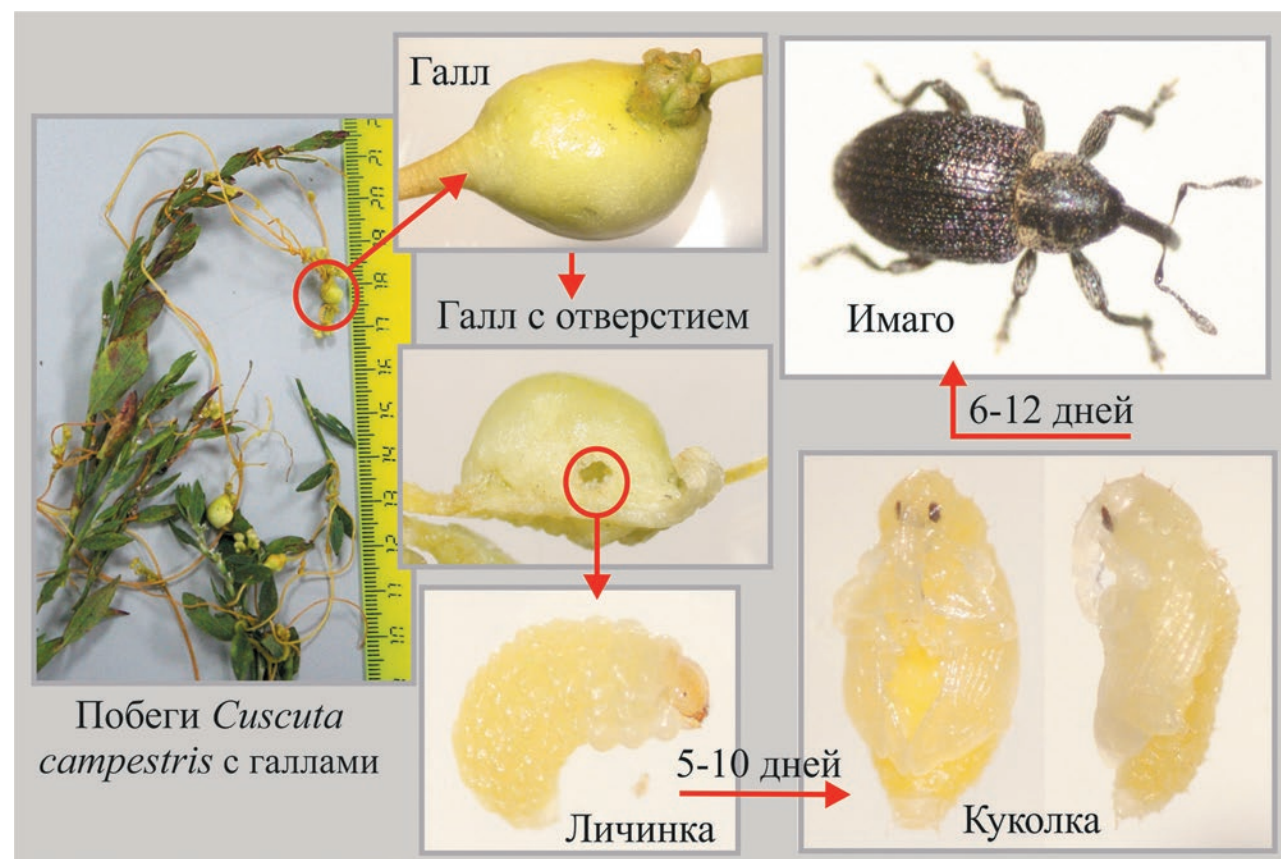


Рис. 8. Развитие *Smicronyx smreczynskii* (фото авторов)

Fig. 8. Development of *Smicronyx smreczynskii* (photo by authors)

ВЫВОДЫ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из 6 видов повилик, обнаруженных когда-либо во флоре области, нами найдены и изучены 3: *Cuscuta campestris*, *C. europaea* и *C. lupuliformis*. В сообществах Пензенской области на данный момент выявлены 29 видов растений-хозяев – для повилики полевой, 16 – для повилики европейской, 25 – для повилики хмелевидной.

2. В Пензенской области ценопопуляции *Cuscuta campestris* отмечены только в антропогенно измененных сообществах (обочины автомобильных и полевых дорог, зарастающие газоны, окраины залежей, окраины полей пшеницы и ячменя, обочины посевов сахарной свеклы), в отличие от *C. europaea* и *C. lupuliformis*, произраставших преимущественно в естественных сообществах пойм рек и ручьев (черноольшаниках, ветляниках, крапивниках).

3. Только с 2 повиликами Пензенской области связана жизнедеятельность долгоносиков рода *Smicronyx*: *S. smreczynskii* и *S. coecus*. На повилике европейской были обнаружены оба вида долгоносиков, на повилике полевой – лишь *S. smreczynskii*. Только на побегах *C. campestris* жизнедеятельность долгоносика вызывала галлогенез.

4. Низкая значимость *S. smreczynskii* как потенциального агента регулирования численности повилики полевой обусловлена особенностями развития долгоносиков (окукливание которых происходит в земле, и вспашка отрицательно сказывается на сохранении видов рода *Smicronyx* на территории полей); наличием естественных врагов, развивающихся непосредственно в галле долгоносика; формой существования повилики (когда недостаток пластических веществ, вызванный галообразованием, компенсируется за счет растения-хозяина).

5. Отсутствие галлообразования и какого-либо заметного влияния *S. smreczynskii* и *S. coecus* на ценопопуляции повилики европейской свидетельствует о невозможности использования этих долгоносиков для регуляции численности *C. europaea*.

БЛАГОДАРНОСТИ

За помощь в определении имаго *Smicronyx* и куколок других насекомых, заселяющих галлы *Smicronyx*, авторы благодарят Д.Г. Касаткина и Ю.Г. Арзанова.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аникин В.В., Никельшпарт М.И., Лаврентьев М.В. Состав насекомых в галле долгоносика *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) на повилике полевой *Cuscuta campestris* (Cuscutaceae) // Бюл. Бот. сада Сарат. гос. ун-та. Сер. Экология растений и геоботаника. – 2017. – Т. 15, вып. 2. – С. 20–26.
2. Аникин В.В., Никельшпарт М.И., Лаврентьев М.В. Эволюционные стратегии освоения насекомыми-галлообразователями своих кормовых растений на территории Саратовской области // Научные труды Национального парка «Хвалынский». – 2017. – Вып. 9. – С. 241–244.
3. Аникин В.В., Никельшпарт М.И., Никельшпарт Э.И., Конюхов И.В. Фотосинтетическая активность у повилики *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) при заселении растения галлообразователем-долгоносиком *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2017. – Т. 17, вып. 1 – С. 42–47.

3. Only 2 dodders in the Penza Region are related to the life activity of weevils of the genus *Smicronyx*: *S. smreczynskii* and *S. coecus*. Both weevil species were found on greater dodder. On American field dodder only *S. smreczynskii* was recorded. Weevils only caused the formation of galls on *C. campestris* shoots.

4. The low importance of *S. smreczynskii* as a potential agent for regulating the number of weevils on American field dodder is due to the peculiarities of weevils development (their pupation occurs in the ground and tilling adversely affects the preservation of species of the genus *Smicronyx* in the fields); the presence of natural enemies developing directly in the weevil's gall; the form of the dodder's existence (when the lack of macronutrients caused by gall formation is compensated by the host plant).

5. Absence of gall formation and any noticeable influence of *S. smreczynskii* and *S. coecus* on greater dodder coenopopulations indicates the impossibility of using these weevils to regulate the population of *C. europaea*.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to D.G. Kasatkin and Yu.G. Arzanov for their help in identifying *Smicronyx* adults and pupae of other insects that colonize *Smicronyx* galls.

REFERENCES

1. Anikin V.V., Nikelshparg M.I., Lavrentev M.V. Insect composition in the gall of weevil *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) on American field dodder *Cuscuta campestris* (Cuscutaceae) [Sostav nasekomykh v galle dolgonosika *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) na povilike polevoj *Cuscuta campestris* (Cuscutaceae)]. *Saratov State University Botanical Garden Bulletin*. Plant Ecology and Geobotany. 2017; 15 (2): 20–26 (in Russian).
2. Anikin V.V., Nikelshparg M.I., Lavrentev M.V. Evolutionary strategies for colonization by gall forming insects of their forage plants on the territory of the Saratov Region [Evolucionnye strategii osvoeniya nasekomyimi-galloobrazovatelyami svoih kormovykh rastenij na territorii Saratovskoj oblasti]. *Research Papers of the Khvalynsky National Park*. 2017; 9: 241–244 (in Russian).
3. Anikin V.V., Nikelshparg M.I., Nikelshparg E.I., Koniukhov I.V. Photosynthetic activity in *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) when inhabited by gall forming weevil *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae) [Fotosinteticheskaya aktivnost' u poviliki *Cuscuta campestris* (Convolvulaceae) pri zaselenii rasteniya galloobrazovatelem-dolgonosikom *Smicronyx smreczynskii* (Coleoptera, Curculionidae)]. *News of the Saratov State University*. Chemistry. Biology. Ecology. 2017; 17 (1): 42–47 (in Russian).
4. Belkin D.L., Kulakova Iu.Iu. Methodological recommendations for detection and identification of species of the genus *Cuscuta* L. [Metodicheskie rekomendacii po vyavleniyu i identifikacii rastenij roda Povilika *Cuscuta* L.]. M.: FGBU "VNIKR", 2015. 41 p. (in Russian).
5. Vasiukov V.M., Saksonov S.V. Flora overview of the Penza Region [Konspekt flory Penzenskoj oblasti]. *Flora of the Volga River basin*. Vol. IV, sc. ed. prof. S.V. Saksonov. Tolyatti: Anna, 2020. 211 p. (in Russian).

4. Белкин Д.Л., Кулакова Ю.Ю. Методические рекомендации по выявлению и идентификации растений рода Повилика *Cuscuta* L. – М.: ФГБУ «ВНИИКР», 2015. – 41 с.

5. Васюков В.М., Саксонов С.В. Конспект флоры Пензенской области / Флора Волжского бассейна. Т. IV; науч. ред. проф. С.В. Саксонов. – Тольятти: Анна, 2020. – 211 с.

6. Вредные организмы, имеющие карантинное фитосанитарное значение для Российской Федерации. Справочник / под ред. Данкверта С. А., Маслова М.И., Магомедова У.Ш., Мордковича Я.Б. – Воронеж: Научная книга, 2009. – 449 с.

7. Жук А.В. Стратегия повилик (*Cuscuta* L.) во взаимоотношениях с хозяевами. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – СПб., 2000. – 22 с.

8. Зарьянова З.А., Цуканова З.Р., Кирюхин С.В. Повилика – злейший враг посевов клевера лугового // Зернобобовые и крупяные культуры. – 2013. – № 4 (8). – С. 103–109.

9. Карантин растений / Под ред. А.С. Васюткина. – М.: Изд-во Клинцов. гор. тип., 2002. – 536 с.

10. Кутафин А.И., Туктаров Б.И., Радугин В.В. Борьба с повиликой на орошаемых землях // Защита и карантин растений. – 2007. – № 8. – С. 44–45.

11. Определитель жуков-долгоносиков (Coleoptera: Curculionidae) России. – URL: http://coleop123.narod.ru/key/opredslon/opred_slon_katalog.html (дата обращения: 01.06.2020).

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

13. Сухолозова Е.А., Сухолозов Е.А. К вопросу о взаимоотношениях видов *Cuscuta* spp. с насекомыми-галообразователями рода *Smicronyx* // Материалы X Международной конференции по экологической морфологии растений, посвященной памяти И.Г. и Т.И. Серебряковых – М., 2019. – С. 81–86.

14. Тахтаджян А.Л. Система магнолиофитов. – Л.: Наука, 1987. – 439 с.

15. Aistova E.V., Bezborodov V.G. Weevils belonging to the Genus *Smicronyx* Schönherr, 1843 (Coleoptera, Curculionidae) affecting dodders (*Cuscuta* Linnaeus, 1753) in the Russian Far East // Russian Journal of Biological Invasions. – 2017. – Vol. 8, No. 2 – P. 184–188.

16. Parker C., Wilson A.K. Parasitic weeds and their control in the Near East // FAO Plant Protection Bulletin. – 1986. – Vol. 34, No. 2. – P. 83–98.

17. Yuncker T.G. The Genus *Cuscuta* // Memoirs of the Torrey Bot. Club. – 1932. – Vol. 18, No. 2. – P. 113–331.

18. Zhekova E., Petkova D., Ivanova I. *Smicronyx smreczynskii* F. Solari, 1952 (Insecta: Curculionidae): Possibilities for biological control of two *Cuscuta* species (Cuscutaceae) in district of Ruse // Acta Zool. Bulg. – 2014. – Vol. 66, No. 3. – P. 431–432.

6. Pests with quarantine phytosanitary importance for the Russian Federation. Handbook [Vrednye organizmy, imeyushchie karantinnoe fitosanitarnoe znachenie dlya Rossijskoj Federacii]. Ed. by S.A. Dankvert, M.I. Maslov, U.Sh. Magomedov, Ia.B. Mordkovich. Voronezh: Nauchnaia kniga, 2009. 449 p. (in Russian).

7. Zhuk A.V. Strategy of dodders (*Cuscuta* L.) in the relationship with its host plants [Strategiya povilik (*Cuscuta* L.) vo vzaimootnosheniyah s hozyaevami]. Abstract of thesis of PhD in biological sciences. Saint Petersburg, 2000. 22 p. (in Russian).

8. Zarianova Z.A., Tsukanova Z.R., Kiriukhin S.V. Dodder – the worst enemy of meadow red clover [Povilika – zlejshij vrag posevov klevera lugovogo]. *Leguminous and Cereal Crops*. 2013; 4 (8): 103–109 (in Russian).

9. Plant Quarantine. Ed. by A.S. Vasiutin. M.: Klintsy city publishing house, 2002. 536 p. (in Russian).

10. Kutafin A.I., Tuktarov B.I., Radugin V.V. Dodder control in irrigated lands [Bor'ba s povilikoj na oroshayemyh zemlyah]. *Plant Protection and Quarantine [Zashchita i karantin rastenij]*. 2007; 8: 44–45 (in Russian).

11. Weevil identifier (Coleoptera: Curculionidae) of Russia [Opredelitel' zhukov-dolgonosikov (Coleoptera: Curculionidae) Rossii]. URL: http://coleop123.narod.ru/key/opredslon/opred_slon_katalog.html (accessed date: 01.06.2020) (in Russian).

12. Solianov A.A. Flora of the Penza Region [Flora Penzenskoj oblasti]. Penza: Belinsky Pedagogical Institute of the Penza State University, 2001. 310 p. (in Russian).

13. Sukholozova E.A., Sukholozov E.A. Regarding the relationship of *Cuscuta* spp. species with gall forming insects of the genus *Smicronyx* [K voprosu o vzaimootnosheniyah vidov *Cuscuta* spp. s nasekomyimi-galoobrazovatelyami roda *Smicronyx*]. *Materials of X International Conference on Ecological Morphology of Plants, dedicated to the memory of I.G. and T.I. Serebryakova*. M., 2019: 81–86 (in Russian).

14. Takhtadzhian A.L. System of angiosperms [Sistema magnoliofitov]. L.: Nauka, 1987. 439 p. (in Russian).

15. Aistova E.V., Bezborodov V.G. Weevils belonging to the genus *Smicronyx* Schönherr, 1843 (Coleoptera, Curculionidae) affecting dodders (*Cuscuta* Linnaeus, 1753) in the Russian Far East. *Russian Journal of Biological Invasions*. 2017; 8 (2): 184–188.

16. Parker C., Wilson A.K. Parasitic weeds and their control in the Near East. *FAO Plant Protection Bulletin*. 1986; 34 (2): 83–98.

17. Yuncker T.G. The Genus *Cuscuta*. *Memoirs of the Torrey Bot. Club*. 1932; 18 (2): 113–331.

18. Zhekova E., Petkova D., Ivanova I. *Smicronyx smreczynskii* F. Solari, 1952 (Insecta: Curculionidae): Possibilities for biological control of two *Cuscuta* species (Cuscutaceae) in district of Ruse. *Acta Zool. Bulg*. 2014; 66 (3): 431–432.

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 5 (при полуторном интервале и размере шрифта 14). Оптимальный объем статьи: до 20 тыс. знаков (включая пробелы).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ*

1. Название статьи, УДК.
2. Имя, отчество, фамилия автора.
3. Место работы автора, должность, ученая степень, адрес электронной почты.
4. Аннотация (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): около 7–8 строк (300–500 знаков с пробелами).
5. Ключевые слова (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
6. Материалы и методы.
7. Результаты и обсуждения.
8. Выводы и заключение.
9. Список литературы (т. е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): правила составления указаны в ГОСТ Р 7.05-2008.
10. 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).
11. 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 – 14, межстрочный интервал – полуторный, 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, Раменский район, г. Раменское, р. п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
Контактное лицо: Зиновьева Светлана Георгиевна
Телефон: 8 (499) 707-22-27, e-mail: zinoveva-s@mail.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)



– Научное и методическое обеспечение деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных ему учреждений в сфере карантина и защиты растений

– Установление карантинного фитосанитарного состояния подкарантинных материалов и территории Российской Федерации путем проведения лабораторных экспертиз и мониторингов

– Научное сотрудничество с национальными и международными организациями в области карантина растений

- Ведущее учреждение в Российской Федерации по синтезу и применению феромонов для выявления карантинных и некарантинных вредителей и борьбы с ними
- ФГБУ «ВНИИКР» – партнер международной программы по координации научных исследований в области карантина растений EUPHRESKO II (European PHYtosanitary RESearch COordination)
- В ФГБУ «ВНИИКР» создан и действует Технический комитет по стандартизации ТК 42 «Карантин и защита растений»
- Ведущее научно-методическое учреждение в составе Координационного совета по карантину растений государств – участников СНГ
- 22 филиала 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,
Раменский район,
г. Раменское, р. п. Быково,
ул. Пограничная, д. 32

Тел./факс:
8 (499) 707-22-27

e-mail: office@vniikr.ru
<http://www.vniikr.ru>