

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
“Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений”
(ФГБНУ ВИЗР)

ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

В Е С Т Н И К
ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2(100) – 2019

Санкт-Петербург – Пушкин
2019

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Научно-теоретический рецензируемый журнал

Основан в 1939 г.

Издание возобновлено в 1999 г.

Учредитель Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

Зарегистрирован в ГК РФ по печати № 017839 от 03 июля 1998 г.

Главный редактор В.А. Павлюшин

Зам. гл. редактора: В.И. Долженко, Ю.С. Токарев

Ответственный секретарь В.К. Моисеева

Журнал «Вестник защиты растений» (1727-1320) с 19.04.2019 г. включен в «Перечень изданий ВАК» по следующим научным специальностям и отраслям науки:

03.02.05. – Энтомология (биологические науки),

03.02.12. – Микология (биологические науки),

06.01.01. – Общее земледелие. Растениеводство (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.04. – Агрохимия (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.05. – Селекция и семеноводство (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.06. – Луговое хозяйство и лекарственные эфирно-масличные культуры (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.07. – Защита растений (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.08. – Плодоводство, виноградарство (сельскохозяйственные и биологические науки),

06.01.09. – Овощеводство (сельскохозяйственные и биологические науки)

Включен в базу данных РИНЦ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Афанасенко О.С., дбн, академик РАН, ВИЗР

Белоусов И.А., кбн, ВИЗР

Белякова Н.А., кбн, ВИЗР

Вилкова Н.А., дбн, ВИЗР

Власенко Н.Г., дсxn, академик РАН,

СибНИИЗиХ СФНЦА РАН

Власов Д.Ю., дбн, СПбГУ

Ганнибал Ф.Б., кбн, ВИЗР

Гончаров Н.Р., ксxn, ВИЗР

Гричанов И.Я., дбн, ВИЗР

Дзянь Синьфу, профессор, КНР

Долженко В.И., дсxn, академик РАН, ВИЗР

Егоров Е.А., дэн, академик РАН, СКФНЦСиВ

Захаренко В.А., дсxn, академик РАН, МНИИСХ

Иващенко В.Г., дбн, ВИЗР

Каракозов С.Д., дхн, академик РАН,

ЗАО “Щелково Агрохим”

Лаврищев А.В., дсxn, СПбГАУ

Лаптев А.Б., дбн, ООО “ИЦЗР”

Левитин М.М., дбн, академик РАН, ВИЗР

Лунева Н.Н., кбн, ВИЗР

Лысов А.К., ктн, ВИЗР

Надыкта В.Д., дтн, академик РАН, ВНИИБЗР

Новикова И.И., дбн, ВИЗР

Павлюшин В.А., дбн, академик РАН, ВИЗР

Радченко Е.Е., дбн, ВИР

Савченко И.В., дбн, академик РАН, ВИЛАР

Санин С.С., дбн, академик РАН, ВНИИФ

Сидельников Н.И., дсxn, член-корреспондент РАН,

ВИЛАР

Синев С.Ю., дбн, ЗИН

Скрябин К.Г., дбн, академик РАН,

ФИЦ “Фундаментальные основы биотехнологии” РАН

Сорока С.В., ксxn, Белоруссия

Сухорученко Г.И., дсxn, ВИЗР

Т. Ули – Маттила, профессор, Финляндия

Токарев Ю.С., дбн, ВИЗР

Упадышев М.Т., дбн, член-корреспондент РАН, ВСТИСП

Фролов А.Н., дбн, ВИЗР

Хлесткина Е.К., дбн, ВИР

Шамшев И.В., кбн, ЗИН

Шпанев А.М., дбн, АФИ

Редакция

И.Я. Гричанов (зав. редакцией), Ю.С. Токарев, С.Г. Удалов, В.К. Моисеева, А.А. Намятова

Россия, 196608, Санкт-Петербург – Пушкин, шоссе Подбельского, 3, ВИЗР

Email: vestnik@vizr.spb.ru

<http://vestnik.vizrspb.ru>

© Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие к 100-му номеру журнала.	5
Трансформация энтомопатогенных грибов: методический обзор С.А. Тимофеев, В.С. Журавлев, В.В. Долгих	7
Фитосанитарное районирование сорных растений на макроуровне на примере Северо-Западного региона России Н.Н. Лунева, Ю.А. Федорова	15
Поражаемость пятнистостями сортов ячменя, включенных в государственный реестр селекционных достижений и находящихся на сортоиспытаниях в условиях Северо-Запада Российской Федерации Н.М. Лашина, О.С. Афанасенко	23
Мониторинг вирулентности и фенотипического состава популяции <i>Puccinia triticina</i> на Южном Урале в 2018 году Е.И. Гульятеева, Е.Р. Шрейдер, Е.Л. Шайдаюк, Н.П. Бондаренко	28
Сравнительная повреждаемость сортов картофеля личинками жуков-щелкунов в различных агроэкологических условиях С.Р. Фасулати, О.В. Иванова	33
Сравнительное изучение эффективности гербицидов в посевах кукурузы в Ставропольском крае С.В. Кузнецова, В.Н. Багринцева, Е.И. Губа.	40
Выявление микроспоридий, заражающих лугового мотылька <i>Loxostege sticticalis</i> (Pyraloidea: Crambidae) в Европейской части России в 2006–2008 годах Ю.М. Малыш, А.Г. Конончук, А.Н. Фролов.	45
<u>Хроника</u>	
Разработка и реализация инновационного проекта по созданию опытного производства биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод Л.Г. Данилов, В.А. Павлюшин	52
К 80-летию выхода первого номера «Вестника защиты растений».	55
IV All-Russian Congress on Plant Protection with international participation “Phytopathological technologies in providing the independence and competitiveness of the agroindustrial complex of Russia” to be held in Saint Petersburg on September 9-11, 2019	57
All-Russian Institute of Plant Protection Today	57
Политика журнала «Вестник защиты растений».	58
Порядок рецензирования и принятия статей к печати	59
Этические принципы.	63
Guides for Authors.	65

CONTENT

Preface to the 100 th issue.	5
Transformation of entomopathogenic fungi: a methodological review S.A. Timofeev, V.S. Zhuravlev, V.V. Dolgikh	7
Phytosanitary zoning of weeds at the macro level: a case study of the North-Western region of Russia N.N. Luneva, Y.A. Fedorova	15
Susceptibility to leaf blights of commercial barley cultivars in North-Western Region of Russia N.M. Lashina, O.S. Afanasenko	23
Monitoring of virulence and phenotypes composition of <i>Puccinia triticina</i> population in Southern Ural in 2018 E.I. Gulyaeva, E.R. Shreyder, E.L. Shaydayuk, N.P. Bondarenko.	28
The comparative study of the potato varieties damage by the click beetles larvae in different agroecological conditions S.R. Fasulati, O.V. Ivanova	33
Comparative efficiency study of herbicides in corn crops in Stavropol Territory S.V. Kuznetsova, V.N. Bagrintseva, E.I. Guba	40
Detection of microsporidia infecting beet webworm <i>Loxostege sticticalis</i> (Pyraloidea: Crambidae) in European part of Russia in 2006–2008 J.M. Malysh, A.G. Kononchuk, A.N. Frolov	45
<u>Chronicle</u>	
Development and implementation of an innovative project on the establishment of experimental production of biological preparations based on entomopathogenic nematodes L.G. Danilov, V.A. Pavlyushin	52
To the 80th anniversary of the first issue of «Plant Protection News»	55
IV All-Russian Congress on Plant protection with international participation “Phytosanitary technologies in providing the independence and competitiveness of the agroindustrial complex of Russia” to be held in Saint Petersburg on September 9-11, 2019	57
All-Russian Institute of Plant Protection Today	57
«Plant Protection News»: The Journal Policy	58
Reviewing process and accepting articles	59
Code of Ethics	63
Guides for Authors.	65

ПРЕДИСЛОВИЕ К 100-МУ НОМЕРУ ЖУРНАЛА

Уважаемые читатели, перед Вами 100-й номер журнала «Вестник защиты растений» за период с 1935 г., когда был начат выпуск издания «Защита растений. Сборник», с которым наш журнал сохраняет преемственность. После долгого перерыва, работа журнала была возобновлена в 1999 г. В течение 20 лет, благодаря авторам научных статей, а также членам редакционной коллегии и редакционного совета, удалось опубликовать около 1000 аналитических обзоров и статей с оригинальными экспериментальными результатами по основным направлениям защиты растений. Читателям предоставлены материалы по научным основам химической и биологической защиты зерновых, овощных, картофеля и других с.-х. культур, а также аналитические обзоры по фитосанитарному мониторингу и прогнозу, что в совокупности явилось основой для формирования концепции фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Ряд публикаций был посвящен фитосанитарной дестабилизации агроценозов. Регулярно в номерах журнала дается информация по системам интегрированной защиты основных с.-х. культур; большое внимание уделяется биологической защите овощных культур в теплицах. Все это крайне важно для решения проблем получения экологически качественной растительной продукции. Безусловно, не обходится и без обсуждения вопросов по формированию ассортимента СЗР и механизации процессов опрыскивания. Не менее важным представляется освещение вопросов биоразнообразия, распространённости, биологической характеристики и вредоносности вредных организмов, а также устойчивости к ним культурных растений.

В историческом плане «Вестник защиты растений» продолжает и развивает традиции, заложенные в ранее издававшихся «Трудах ВИЗР» и «Бюллетене ВИЗР», чему способствовала активная творческая деятельность видных ученых института (академик Новожилов К.В., профессора Буров В.Н., Зубков

А.Ф., Танский В.И. и др.). На современном этапе функционирования «Вестника защиты растений» весьма значительна роль ведущих ученых из ВИЗР и ряда других институтов (академики Левитин М.М., Долженко В.И., Павлюшин В.А., Санин С.С., Спиридонов Ю.Я., Надыкта В.Д. и др.). Творческим вкладом сотен авторов журнал вносит определенную лепту в формирование современного уровня научно-го обеспечения защиты растений в нашей стране и за рубежом.

Журнал включён в Перечень российских рецензируемых научных журналов, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук (Перечень ВАК). С 2019 г., после переаттестации, журнал зарегистрирован в Перечне ВАК с расширенным набором научных специальностей и дисциплин, что, безусловно, расширяет поле деятельности «Вестника защиты растений» по фитосанитарному блоку в селекции и семеноводстве, овощеводстве, плодоводстве, луговодстве и т.д.

Наш журнал и далее будет продуктивно реагировать на современные вызовы и способствовать достижению фитосанитарного благополучия в стране. Актив редакционной коллегии продолжает и приумножает лучшие традиции журнала, совершенствует свой состав и работу, способствует расширению его тематики, стремится к высокому уровню публикуемых статей в области защиты растений. Журналом приняты этические принципы и новый порядок рецензирования с целью повышения объективности оценки поступающих работ, борьбы с некорректными публикационными стратегиями, исключения конфликта интересов. Для расширения круга читателей не только в России, но и за рубежом, журнал приглашает к сотрудничеству зарубежных авторов, а также приветствует публикацию материалов отечественных специалистов на английском – языке международного научного общения.

Редколлегия

PREFACE TO THE 100TH ISSUE

Dear readers, here comes the 100th issue of the journal «Plant Protection News» («Vestnik Zashchity Rasteniy») since 1935, when publication of the «Plant Protection. Miscellaneous» journal has been initiated that our journal maintains continuity with. After a long break, the work of the journal has been continued in 1999. During 20 years, thanks to the authors of scientific papers, as well as members of Editorial Board and Editorial Council, as many as 1000 reviews and original experimental papers have been published covering major directions of plant protection. The readers have been provided with materials concerning scientific bases of chemical and biological protection of cereals, vegetables, potato and other agricultural crops, as well as reviews concerning phytosanitary monitoring and forecast, serving as a base for the formation of the concept of phytosanitary optimization of agricultural ecosystems. A series of works is dedicated to the phytosanitary destabilization of agricultural landscapes. Information on systems of integrated pest management for main agricultural crops is included on the regular basis and attention to the biological protection of vegetable crops in glasshouses is also given. All these issues are essential for solution of problems concerning growing of high quality and ecologically safe plant production. Shaping the assortment of chemical plant protection means and mechanization of spraying procedures is also discussed. Other important topics are biodiversity, distribution, biological properties and harmfulness of pestiferous organisms as well as resistance of the cultured plants.

Historically, «Plant Protection News» continues and develops traditions based in previously published «Works of the All-Russian Institute of Plant Protection» and «Bulletin of the All-Russian Institute of Plant Protection», which was actively supported by the leading scientists of the institute (academician Novozhilov K.V., professors Burov V.N., Zubkov A.F., Tanskiy V.I. and others). Nowadays, input of the grand researchers of the All-Russian Institute of Plant Protection and other institutions (academicians Levitin M.M., Dolzhenko V.I., Pavlyushin V.A., Sanin S.S., Spiridonov Y.Y., Nadykta V.D. and others) is inevitable for the functioning of «Plant Protection News». Through the creative work of hundreds of authors the journal contributes to the development of modern level of scientific support of plant protection in our country and abroad.

Our journal plans to continue responding modern challenges to reach the phytosanitary wellness in the country. The core of the Editorial Board keeps the best journal's traditions, aimed at self-perfection, broadening of the journal scope, increasing the level and impact of the papers published in the field of plant protection. The journal has accepted Code of Ethics and the new reviewing procedures in order to level-up the evaluation of the submitted manuscripts, to combat the incorrect publication strategies and to exclude the conflict of interests. To expand the range of readers both in Russia and abroad, the journal invites foreign authors for cooperation and encourages publication of the materials from Russian specialists in English, which is the language of international scientific cooperation.

Editorial Board

ТРАНСФОРМАЦИЯ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ: МЕТОДИЧЕСКИЙ ОБЗОР**С.А. Тимофеев*, В.С. Журавлев, В.В. Долгих***Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург** ответственный за переписку, e-mail: ts-bio@ya.ru

Энтомопатогенные грибы широко используются в качестве безопасной для окружающей среды альтернативы химическим пестицидам против сельскохозяйственных вредителей и переносчиков болезней человека. Одним из перспективных способов увеличения эффективности биопрепаратов на основе мицелиальных грибов является их генная модификация. С помощью генетической трансформации можно существенно повысить вирулентность используемых штаммов, а также повысить их устойчивость к абиотическим факторам среды. В данном обзоре представлены современные методики трансформации энтомопатогенных анаморфных аскомицетов: полиэтиленгликоль-опосредованная трансформация протопластов, трансформация с помощью агробактерий, электропорация пророщенных конидий и химическая трансформация бластоспор. Сравнительный анализ данных методик показал, что агробактериальная трансформация является наиболее универсальным методом, широко описанным для различных видов мицелиальных патогенов насекомых, таких как представители родов *Beauveria*, *Metarhizium* и *Lecanicillium*. В то же время простой и наименее затратный по времени метод химической трансформации бластоспор на сегодняшний день применялся только для вида *B. bassiana*. Также в обзоре описаны способы рекомбинации встраиваемых последовательностей в геном грибов и генетические маркеры, применение которых возможно для негативной и позитивной селекции модифицированных организмов.

Ключевые слова: энтомопатогенные грибы, трансформация, защита растений, протопласты, агробактерии, электропорация

Поступила в редакцию: 03.02.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Введение

Энтомопатогенные грибы являются важными природными регуляторами популяций насекомых, в том числе сельскохозяйственных вредителей. Анаморфные аскомицеты родов *Beauveria*, *Metarhizium* и *Lecanicillium* выделяются как одни из наиболее перспективных агентов биологической борьбы с вредными насекомыми (De Faria, Wraight, 2007; Goettel et al., 2008; Ansari et al., 2011). Кроме того, представители данных видов могут использоваться для борьбы с переносчиками заболеваний человека, передающихся векторным путем, например, малярии (Tomas, Read, 2007). Тем не менее, применение биопрепаратов на основе данных видов в полевых условиях ограничено из-за относительно медленного уничтожения насекомых и чувствительности грибов к абиотическим стрессам, таким как ультрафиолетовое излучение, высокая температура и низкая влажность (Rangel et al., 2008). На сегодняшний день наиболее перспективным направлением создания экономически эффективных биопрепаратов на основе энтомопатогенных грибов является их генетическая модификация для повышения вирулентности и устойчивости используемых штаммов к абиотическим факторам среды (Gressel, 2007).

Чаще всего в геном грибов встраивают последовательности, кодирующие различные факторы вирулентности, такие как секретируемые формы токсинов, способных приводить к быстрой гибели зараженного насекомого, различные формы хитиназ, протеиназ и гидролаз, способствующих более эффективному заражению насекомых и распространению патогена. Эффективное увеличение вирулентности наблюдалось как при встраивании синтетически созданных последовательностей, так и генов энтомопатогенных грибов других видов, последовательно самого насекомого-хозяина, а также генов различных

хищных насекомых (например, пауков или скорпионов) (Lovett, Leger, 2018).

«Для получения трансформированных энтомопатогенных грибов применяют, как правило, следующую стратегию, которая включает три этапа: (1) доставка экзогенной ДНК в клетку-реципиент с использованием одной из плазмид-опосредованных систем трансформации; (2) интеграция чужеродной ДНК в геном гриба; (3) отбор трансформированных клеток, с оценкой экспрессии перенесенной последовательности в клетках трансформантов грибов».

Процесс доставки чужеродной ДНК в клетки энтомопатогенных грибов является основным и наиболее трудоемким этапом трансформации (Ruiz-Díez, 2002). Это обусловлено особой структурой клеточной стенки у данных организмов, а также необходимостью отбирать одноклеточные стадии жизненного цикла грибов. На сегодняшний день для этого используются четыре основных методики: полиэтиленгликоль-опосредованная трансформация протопластов, трансформация с помощью агробактерий, электропорация пророщенных конидий и химическая трансформация бластоспор. Эти методики, а также особенности жизненного цикла анаморфных аскомицетов будут рассмотрены отдельно в заключительной части обзора.

Встраивание чужеродной последовательности в геном грибов чаще всего происходит неспецифично за счет негомологичной рекомбинации в случайный участок геномной ДНК (Xu et al., 2014). Создание конструкций для гомологичной рекомбинации целевой последовательности в определенный участок генома энтомопатогенных анаморфных аскомицетов значительно затруднено из-за крайне низкого уровня гомологичной рекомбинации в их клетках, что может быть обусловлено особенностями функционирования их восстановительного пути соединения

негомологичных концов ДНК (NHEJ) (Chen et al., 2017). На сегодняшний день данная система у анаморфных аскомицетов плохо изучена, однако было показано, что нарушение функционирования гомологов генов, ответственных за NHEJ у других групп организмов, значительно увеличивает уровень гомологичной рекомбинации в клетках грибов *Aspergillus fumigatus*, *Neurospora crassa* и *Metarhizium robertsii* (Ninomiya et al., 2004; Krappmann et al., 2006; Xu et al., 2014). Еще одной перспективной методикой, позволяющей как внедрять чужеродные последовательности ДНК в определенный участок генома эукариот, так и осуществлять целенаправленный мутагенез, является редактирование ДНК с помощью CRISPR/Cas9, возможность применения которой для энтомопатогенных грибов была показана на примере *B. bassiana* в 2017 году (Chen et al., 2017).

Выбор маркеров для негативной селекции трансформированных энтомопатогенных грибов сильно ограничен, так как они обладают естественной устойчивостью к большинству антибиотиков, используемых в качестве селективных маркеров (Chen et al., 2017). В настоящее время повсеместно используются только два маркера устойчивости: ген фосфинотрицинацетилтрансферазы (*bar*) для устойчивости к гербициду фосфинотрицину и ген ацетоллактатсинтазы (*sur*) фитопатогенного гриба *Magnaporthe oryzae* для отбора с помощью сульфонилмочевины (Koukaki, et al., 2003; Zhang et al., 2010). Однако в 2011 году был создан штамм *L. lecanii* с нарушенным функционированием нитратредуктазы, не способный развиваться на среде с хлоратом. Трансформация грибов экзогенной последовательностью, кодирующей нитратредуктазу *Aspergillus nidulans*, восстанавливала эту способность (Hasan et al., 2011), что свидетельствует о том, что новые системы негативной селекции могут быть получены генно-инженерными методами.

Система позитивной селекции для энтомопатогенных грибов на сегодняшний день практически не разработана, так как эффективные инструменты для целенаправленного мутагенеза этих организмов появились лишь в недавнем времени. На сегодняшний день уже создан штамм *B. bassiana*, не способный синтезировать нуклеозид уридин в результате нарушения гена *ura3*. Мутанты не развивались без экзогенного уридина и были способны расти на питательной среде, содержащей 5-фтороротовую кислоту (5-FOA), что указывает на то, что ауксотрофность по уридину может быть использована в качестве селективируемого маркера для трансформации энтомопатогенных грибов (Ying et al., 2013).

Особенности жизненного цикла энтомопатогенных мицелиальных грибов в природе и культуре в контексте выбора материала для генетической трансформации

Упрощенная схема жизненного цикла энтомопатогенных анаморфных аскомицетов может быть описана следующим образом: в качестве инвазионной стадии, существующей во внешней среде, выступают одноклеточные толстостенные споры – конидии. Данные клетки, размер которых обычно не превышает нескольких микрометров, имеют сильно развитую клеточную стенку. Попав на организм насекомого-хозяина (проникновение может осуществляться практически через любые участки тела: кишечник,

трахеи и т.д.) конидии закрепляются на поверхности кутикулы насекомого за счет гидрофобных взаимодействий между липидными компонентами кутикул и клеточной оболочки споры, а также за счет неровностей и выростов на поверхности кутикулы (Борисов и др., 2001). Затем на одном из полюсов клетки образуется вырост – ростковая трубка, а ядро конидии приступает к митотическому делению. В конечном счете, процесс прорастания завершается миграцией одного из дочерних ядер и большинства клеточных органелл из споры в ростковую трубку и ее последующее отделение от споры септой. Этот процесс приводит к образованию апрессориальных клеток, которые делятся на поверхности кутикулы насекомого, формируют так называемую инфекционную подушку – скопление из нескольких апрессориальных клеток, покрытых слизеподобным веществом. В областях таких скоплений происходит разрушение верхних слоев кутикулы насекомого и внедрение патогена внутрь, с образованием гифальных тел различного порядка, и многоклеточных гиф, прорастающих через кутикулу и гиподерму насекомого. В гемолимфе хозяина за счет септирования гиф происходит образование тонкостенных одноклеточных гифальных тел, которые разносятся гемолимфой по телу насекомого и поражают его различные органы и ткани. Данные стадии, которые для многих видов грибов обозначаются как бластоспоры, лишены классической клеточной стенки и обладают лишь тонким фибриллярным слоем поверх плазматической мембраны (Inglis et al., 2001). Активное распространение патогена по организму хозяина обычно начинается уже после гибели насекомого и завершается прорастанием гиф из насекомого во внешнюю среду, и образованием там конидий для заражения других особей.

В культуре жизненный цикл анаморфных аскомицетов значительно упрощается. При выращивании грибов на твердых средах обычно можно наблюдать формирование гиф и толстостенных конидий, а при культивации в жидких средах помимо гиф формируются бластоспоры, аналогичные гифальным телам, образующимся в гемолимфе зараженных насекомых и не обладающие выраженной клеточной стенкой (Bernardo et al., 2018).

Для генетической трансформации энтомопатогенных грибов обычно используют одноклеточные стадии жизненного цикла грибов, получаемые в культуре: конидии и бластоспоры, которые чаще всего выделяют из культуры за счет фильтрации (Fang, et al., 2004). Так как конидии обладают сильно развитой клеточной стенкой, затрудняющей попадание экзогенной ДНК внутрь клетки, для их трансформации обычно используют методики, предполагающие временное удаление этой оболочки, или расщепления его участка бактериями (трансформация с помощью ПЭГ и агробактериальная трансформация). Для электропорации также могут быть использованы пророщенные конидии, клеточная стенка которых истончается в зоне проростка, что облегчает проникновение ДНК в клетку гриба (Jin et al., 2008). Тонкостенные бластоспоры, не требующие создания протопластов, могут быть непосредственно использованы для трансформации с помощью ПЭГ (Ying et al., 2013), но чаще всего применяются в качестве объекта для химической трансформации с помощью ацетата лития (Ying, Feng, 2006).

Трансформация протопластов с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ)

Данный протокол является «первопроходцем» среди всех методов трансформации мицелиальных грибов. Первые данные об успешной трансформации конидий *Neurospora crassa* с помощью данной методики были опубликованы в 1979 году (Case et al., 1979). С тех пор метод повсеместно использовался для трансформации фитопатогенных анаморфных аскомицетов, однако для энтомопатогенных грибов он был адаптирован только в 2011 году на примере *L. lecanii* (Hasan et al., 2011). Общая схема данного метода (рис., а) для энтомопатогенов выглядит следующим образом: на первом этапе из культуры грибов отбираются одноклеточные стадии жизненного цикла, обычно конидии, клеточная стенка которых удаляется сложной смесью ферментов для получения протопластов (Liu Z, Friesen, 2012; Zhang et al., 2016). Также описано получение одноклеточных протопластов, подходящих для трансформации, при разрушении клеточной стенки гиф мицелия (Hasan et al., 2011). Для этого процесса обычно используют смесь геликазы или глюосулазы из препаратов желудка улитки, а также целлюлазы, 1,3-глюканазы, хитиназы и др. из *Trichoderma* sp. или других видов грибов. Расщепление обычно проводят в осмотическом буфере, содержащем сорбитол или соль в высокой концентрации, чтобы стабилизировать образующиеся протопласты.

Поглощение ДНК протопластами осуществляется путем инкубации протопластов с высококонцентрированной ДНК с последующим добавлением до 10 объемов 40–60 % раствора ПЭГ 4000, а затем еще одним периодом инкубации. Было обнаружено, что ПЭГ вызывает адгезию протопластов, что, как считается, облегчает поступление ДНК в клетки грибов. Однако было показано, что ПЭГ вряд ли индуцирует взаимодействие между ДНК и поверхностью клетки, и слияние протопластов не является прямой причиной поглощения ДНК; следовательно, роль ПЭГ в поглощении ДНК остается в значительной степени неизвестной (Kuwano et al., 2008). После обработки ПЭГ протопласты промывают осмотическим буфером, содержащим сорбитол, и переносят в регенерационную среду для восстановления клеточной стенки перед помещением на селективную среду.

Агробактериальная трансформация

Agrobacterium tumefaciens – грам-негативная почвенная бактерия, способная вызывать образование опухолей и галлов у растений. Данный процесс происходит за счет транспорта участка опухолеобразующей плазмиды (Ti plasmid) из клеток бактерий в клетки растений, встраивания данного участка в геном растительных клеток за счет рекомбинации, и экспрессии генов в составе данного участка, вызывающей трансформацию клеток растений и развитие опухолей. Процесс переноса в свою очередь обусловлен активацией генов вирулентности (*vir genes*), находящихся в составе Ti-плазмиды, которая происходит при контакте бактерии с фенольным соединением ацетосирингон, который вырабатывается клетками большинства двудольных растений (Weijersbergen et al., 1992). Данная особенность уже более трех десятилетий применяется для генетической модификации двудольных растений (Hooykaas, Schilperoort, 1992).

В 1995 году было показано, что данная методика подходит не только для трансформации растений, но и других групп организмов. Авторы продемонстрировали, что при совместной культивации агробактерий и дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в среде, содержащей ацетосирингон, также происходит перенос участка Ti-плазмиды из клеток бактерий в клетки дрожжей (Bundock et al., 1995). В 1997 году эта методика впервые была применена для трансформации многоклеточных грибов – анаморфных аскомицетов родов *Aspergillus*, *Fusarium* и др. (de Groot et al., 1998). В 2004 году данная методика была впервые успешно использована для трансформации энтомопатогенных грибов *B. bassiana* (Fang, et al., 2004), в 2006 году – для *M. anisopliae* (Fang et al., 2006) и в 2014 году – для *L. lecanii* (Zhang et al., 2014).

На первом этапе агробактериальной трансформации энтомопатогенных грибов (рис., б) происходит создание конструкции на основе Ti плазмиды *A. tumefaciens*, в которую на место генов онкообразования встраивается целевая последовательность ДНК. Затем полученной конструкцией трансформируется штамм *A. tumefaciens* (Fang et al., 2004, 2006; Zhang et al., 2014). В свою очередь из культуры энтомопатогенных грибов отбираются одноклеточные стадии жизненного цикла, чаще всего конидии. На втором этапе происходит совместная культивация грибов и бактерий в среде, содержащей ацетосирингон, что приводит к активации *vir* генов в составе бактериальной плазмиды и переносу целевого участка ДНК в клетки грибов. Для удобства переноса бактерий и грибов в различные среды, используемые на следующих этапах, совместную культивацию обычно производят на поверхности проницаемой для питательных веществ мембраны, помещенной в чашку Петри с агаризированной питательной средой. В качестве мембраны использовались как нитроцеллюлозные и целлофановые пористые фильтры, так и обычная фильтровальная бумага. После 12–72 часов совместной культивации мембрану с клетками переносят на среду, содержащую селективный агент для отбора трансформантов и антибиотик цефотаксим (в концентрации 200–500 мкг/мкл) для уничтожения клеток бактерий, после чего выросшие колонии трансформантов переносят на свежую чашку Петри с селективной питательной средой.

Электропорация пророщенных конидий

Электропорация – это один из наиболее простых методов трансформации прокариотических организмов. В некоторых случаях этот метод может быть применен и для эукариот, например для трансформации клеток дрожжей (Jin et al., 2008). При электропорации образец подвергается воздействию импульсного напряжения, что приводит к созданию пор в билипидной мембране клетки, в результате чего экзогенная ДНК может переноситься в трансформируемую клетку. Непосредственная электропорация стадий жизненного цикла анаморфных аскомицетов, таких как конидии или споры различных типов, оказалась невозможна из-за особой структурой клеточной стенки у данных организмов, не позволяющей электрическому воздействию вызвать у данных организмов проницаемость мембраны для ДНК. Не результативной оказалась и попытка электропорации лишенных клеточной стенки протопластов, которые утрачивали жизнеспособность после этой процедуры (Ruiz-Díez, 2002). Эффективным

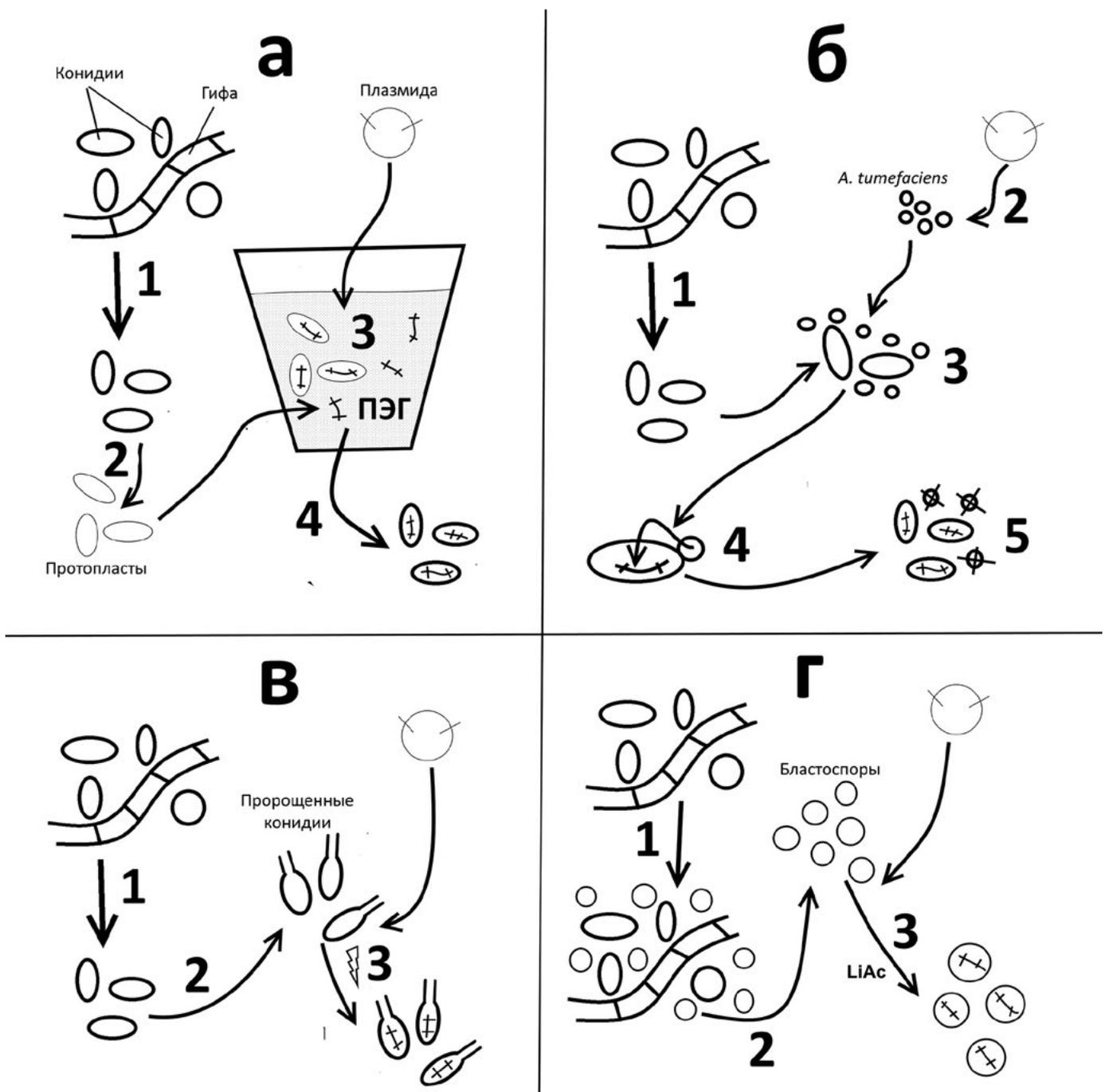


Рисунок. Схема методов трансформации энтомопатогенных мицелиальных грибов

- а – Трансформация протопластов с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ). 1 – отбор конидий из культуры грибов; 2 – расщепление клеточной стенки конидий и получение протопластов; 3 – инкубация протопластов и генетической конструкции, содержащей встраиваемую последовательность, в растворе с ПЭГ и ее проникновение в клетки грибов; 4 – регенерация клеточной стенки протопластов.
- б – Агробактериальная трансформация. 1 – отбор конидий из культуры грибов; 2 – трансформация бактерии *Agrobacterium tumefaciens* конструкцией на основе Ti-плазмиды, содержащей встраиваемую последовательность, а также *vir* гены *A. tumefaciens*; 3 – объединение и начало совместного культивирования клеток грибов и бактерий; 4 – активация *vir* генов и перенос встраиваемой последовательности в клетки грибов; 5 – элиминация бактерий с помощью антибиотиков.
- в – Электропорация пророщенных конидий. 1 – отбор конидий из культуры грибов; 2 – проращивание конидий; 3 – трансформация пророщенных конидий конструкцией, содержащей встраиваемую последовательность с помощью электропорации.
- г – Химическая трансформация бластоспор с помощью ацетата лития. 1 – индукция образования бластоспор грибов в культуре; 2 – отбор бластоспор; 3 – трансформация бластоспор конструкцией, содержащей встраиваемую последовательность с помощью ацетата лития.

решением, позволяющим электропорировать энтомопатогенные грибы, является использование пророщенных конидий, клеточная стенка которых истончается в зоне проростка (рис., в). Первые данные об успешной электропорации пророщенных конидий *N. crassa* были опубликованы в 1990 году (Chakraborty, Karoor, 1990). Для энтомопатогенных грибов метод впервые был применен для *B. bassiana* (Jin et al., 2008), а в 2019 году мы адаптировали данную методику для *L. muscarium* (Timofeev et al., 2019). Метод включает в себя отбор конидий из культуры грибов и их культивирование в определенных условиях для формирования проростков. Пророщенные конидии, при условии остановки роста проростка на определенной стадии, могут быть непосредственно использованы для электропорации. Важным преимуществом данной методики является возможность заморозки электрокомпетентных конидий для их использования по мере необходимости.

Химическая трансформация бластоспор с помощью ацетата лития

Некоторые мицелиальные грибы в определенных условиях могут образовывать бластоспоры – одноклеточные тела, морфологически схожие с дрожжами, обладающие крайне тонкими стенками и меньшими по сравнению с другими видами спор и конидий размерами (Bidochka et al., 1987). Было показано, что данные стадии жизненного цикла анаморфных аскомицетов могут быть трансформированы с помощью ацетата лития, что повсеместно применяется для трансформации дрожжей (Ying, Feng, 2006). На первом этапе (рис., г) осуществляется культивация грибов в среде с определенным рН и содержанием азота для стимуляции образования бластоспор (Ypsilos, Magan, 2005). Затем осуществляется отбор данных стадий из культуры, которые могут быть заморожены и использованы по мере необходимости. Трансформация осуществляется за счет добавления к клеткам раствора, содержащего ацетат лития, который воздействует на клеточную мембрану спор, увеличивая ее пористость, а также процедуры теплового шока. Несмотря на то, что все энтомопатогены родов *Metarhizium*, *Beauveria* и *Lecanicillium* могут продуцировать бластоспоры в культуре, на сегодняшний день метод был успешно адаптирован только для *B. bassiana* (Ying, Feng, 2006; Chen et al., 2017).

Сравнительный анализ методов трансформации анаморфных аскомицетов

Субъективно оценивая трудоемкость и времязатратность описываемых методов, нам представляется, что наиболее простой в исполнении является химическая трансформация бластоспор. Для этой методики не требуется специального оборудования и большого количества разнообразных реактивов. Трансформация осуществляется в один этап, а кроме того, имеется возможность хранить компетентные клетки грибов в замороженном состоянии и использовать их по мере необходимости. Это также возможно и при подготовке материала для электропорации, которая при этом представляется нам чуть более трудоемкой, так как для этой методики необходимо, помимо отбора конидий из культуры, также осуществить их проращивание. Кроме того, необходимо наличие соответствующего оборудования для самого процесса электропорации. На третье место по трудозатратности мы поместили трансформацию протопластов с помощью ПЭГ, которая

осуществляется уже в несколько этапов: отбор материала, создание протопластов, трансформация протопластов и их регенерация. И наконец, наиболее сложной и длительной методикой, по нашему мнению, является агробактериальная трансформация, для которой необходимо предварительно получить трансформированный штамм бактерии, осуществить его совместную культивацию с отобранным материалом грибов, а затем освободить трансформированные клетки от бактерий.

Несмотря на это, анализируя встречаемость описываемых методов в литературе, можно сделать вывод, что наиболее универсальной и часто используемой методикой для энтомопатогенных аскомицетов является агробактериальная трансформация (таблица). Только этот метод успешно применялся к представителям родов как *Beauveria* и *Lecanicillium* так и *Metarhizium*, тогда как другие методы были описаны только для родов *Beauveria* и *Lecanicillium* (Трансформация с помощью ПЭГ и электропорация) или только для рода *Beauveria* (химическая трансформация бластоспор).

Еще одним критерием качественной оценки, является эффективность метода, измеряемая в количестве получаемых трансформантов на объем использованной экзогенной ДНК. К сожалению, в подавляющем большинстве случаев, этот параметр указывался в проанализированной литературе только в работах, посвященных первоописанию методов, но не в публикациях, связанных с его применением, что не позволяет выявить какие-либо статистически достоверные различия. Используя имеющиеся данные можно предположить, что эффективность всех методик является примерно одинаковой, так как во всех описанных случаях авторы получали от двух до нескольких десятков трансформантов на 1 мкг экзогенной ДНК (Ying, Feng, 2006; Jin et al., 2008; Hasan et al., 2011; Zhang et al., 2016; Timofeev et al., 2019) Для агробактериальной трансформации этот параметр не применим, так как невозможно подсчитать точно количество встраиваемой ДНК, находящейся в клетках бактерий. Можно предположить, что эффективность данной методики находится примерно на одном уровне с другими, так как количество получаемых трансформантов за один условный «раунд» трансформации, с использованием стандартной аликвоты ДНК или агробактерий, во всех случаях колеблется в пределах нескольких сотен (Fang et al., 2004, 2006; Zhang et al., 2014).

Анализируя все вышесказанное трудно однозначно порекомендовать к использованию какой-либо конкретный метод. Ни один из них не демонстрирует выраженного преимущества в количестве получаемых трансформантов. Наиболее универсальной и применимой во всех случаях оказывается агробактериальная трансформация, являясь при этом наиболее самой затратной по времени и трудоемкой. Чрезвычайно простая и удобная методика химической трансформации бластоспор описана только для *B. bassiana*, и пока у нас нет возможности утверждать о ее применимости для других энтомопатогенных аскомицетов. На сегодняшний день область генетической модификации энтомопатогенных грибов еще только развивается и для некоторых описанных методов существуют лишь единичные примеры их применения, что говорит о том, что многие методики еще должны быть разработаны и оптимизированы для разных видов анаморфных аскомицетов в будущем.

Таблица. Сводка опубликованных работ по трансформации энтомопатогенных грибов родов *Metarhizium*, *Beauveria* и *Lecanicillium*

Метод	Организм	Используемый материал	Продукт, кодируемый встраиваемым геном	Источник
Агробактериальная трансформация	<i>B. bassiana</i>	Конидии	β-глюкозидаза	Fang et al., 2004
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	Хитиназа <i>B. bassiana</i>	Fang et al., 2005
	<i>M. anisopliae</i>	Конидии	eGFP	Fang et al., 2006
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	GFP	Wu et al., 2008
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	Хитиназа и протеаза <i>B. bassiana</i>	Fang et al., 2009
	<i>M. acridum</i>	Конидии	β-глюкозидаза	Cao et al., 2012
	<i>M. robertsii</i>	Конидии	Фототиаза <i>Halobacterium salinarum</i>	Fang, leger, 2012
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	β-тубулин <i>Botrytis cinerea</i>	Zhang et al., 2014
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	eGFP	Nai et al., 2015
	<i>L. lecanii</i>	Конидии	Токсин скорпиона <i>Buthus martensi</i>	Xie et al., 2015
Химическая трансформация бластоспор с помощью ацетата лития.	<i>M. robertsi</i>	Конидии	eGFP и mCherry	Padilla-Guerrero, Bidochka, 2017
	<i>M. acridum</i>	Конидии	Двухцепочечная РНК комплементарная гену АТФ синтазы <i>Locusta migratoria</i>	Hu, Xia, 2019
	<i>L. attenuatum</i>	Конидии	Двухцепочечная РНК комплементарная генам иммунного ответа <i>Dialeurodes citri</i>	Yu et al., 2019
Трансформация протопластов с помощью полиэтиленгликоля (ПЭГ)	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	GFP	Ying, Feng, 2006
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Токсин скорпиона и протеаза <i>M. anisopliae</i>	Lu et al., 2008
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Белок клеточной стенки <i>M. anisopliae</i>	Li et al., 2010
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Супероксиддисмутаза <i>B. bassiana</i>	Xie et al., 2010
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Тиоредоксин <i>E coli</i>	Ying, Feng, 2011
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	eGFP	Kim et al., 2013
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Комплекс Cas9/gRNA для редактирования генома <i>B. bassiana</i>	Chen et al., 2017
Электropорация прощепленных конидий	<i>L. lecanii</i>	Мицелий	Нитратредуктаза <i>Aspergillus nidulans</i>	Hasan et al. 2011
	<i>B. bassiana</i>	Бластоспоры	Оротидин 5'-фосфат декарбоксилаза <i>B. bassiana</i>	Ying et al., 2013
	<i>L. lecanii</i>	Конидии	Оротидин 5'-фосфат декарбоксилаза <i>L. lecanii</i>	Ishidoh et al. 2014
	<i>L. lecanii</i>	Конидии	Протеаза <i>B. bassiana</i>	Zhang et al., 2016
	<i>L. attenuatum</i>	Конидии	Протеаза <i>B. bassiana</i>	Xie et al., 2016
Электropорация прощепленных конидий	<i>B. bassiana</i>	Конидии	GFP	Jin et al., 2008
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	Синтетическая хитиназа	Fan et al., 2007
	<i>B. bassiana</i>	Конидии	Хитиназа и протеаза <i>B. bassiana</i>	Fan et al., 2010
	<i>L. muscarium</i>	Конидии	eGFP	Timofeev et al., 2019

Работа выполнена в рамках госзадания № 0483-2019-0001.

Библиографический список (References)

- Борисов БА, Серебров ВВ, Новикова ИИ, Бойкова ИВ (2001) Энтомопатогенные аскомицеты и дейтеромицеты. В кн.: Глухов ВВ (ред) Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М.: Круглый год. 76–188
- Ansari MA, Pope EC, Carpenter S, Scholte EJ et al (2011) Entomopathogenic fungus as a biological control for an important vector of livestock disease: the *Culicoides* biting midge. *PLoS One* 6:e16108. <https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0016108>
- Beijersbergen A, Den Dulk-Ras A, Schilperoort RA, Hooykaas PJJ (1992) Conjugative transfer by the virulence system of *Agrobacterium tumefaciens*. *Science* 256(5061):1324–1327 <https://www.doi.org/10.1126/science.256.5061.1324>
- Bernardo CC, Barreto LP, E Silva CSR, Luz C1 et al (2018) Conidia and blastospores of *Metarhizium spp.* and *Beauveria bassiana* s.l.: Their development during the infection process and virulence against the tick *Rhipicephalus microplus*. *Ticks Tick Borne Dis* 9(5):1334–1342. <https://www.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.06.001>
- Bidochka MJ, Pfeifer TA, Khachatourians GG (1987) Development of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in liquid culture. *Mycopathologia* 99:77–83
- Bundock P, Dulk-Ras A, Beijersbergen AGM, Hooykaas PJJ (1995) Trans-kingdom T-DNA transfer from *Agrobacterium tumefaciens* to *Saccharomyces cerevisiae*. *EMBO J* 14:3206–3214
- Cao Y, Jiao R, Xia Y (2012) A strong promoter, PMagpd, provides a tool for high gene expression in entomopathogenic fungus, *Metarhizium acridum*. *Biotechnol Lett* 34:557–562
- Case ME, Schweizer M, Kushner SR, Giles NH (1979) Efficient transformation of *Neurospora crassa* by utilizing hybrid plasmid DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:5259–5263
- Chakraborty BN, Kapoor M (1990) Transformation of filamentous fungi by electroporation. *Nucleic Acids Res* 18:6737
- Chen J, Lai Y, Wang L, Zhai S, Zou G, Zhou Z, et al (2017) CRISPR/Cas9-mediated efficient genome editing via blastospore-based transformation in entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Sci Rep* 7:45763 <https://www.doi.org/10.1038/srep45763>

- De Faria MR, Wraight SP (2007) Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol Control* 43(3):237–256. <http://www.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>
- De Groot MJA, Bundock P, Hooykaas PJJ, Beijersbergen AGM (1998) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of filamentous fungi. *Nat Biotechnol* 16: 839–842
- Fan Y, Fang W, Guo S, Pei X et al (2007) Increased insect virulence in *Beauveria bassiana* overexpressing an engineered chitinase with the chitin binding domain from *Bombyx mori*. *Appl Environ Microbiol* 73(1):295–302. <https://www.doi.org/10.1128/AEM.01974-06>
- Fan Y, Pei X, Guo S, Zhang Y et al (2010) Increased virulence using engineered protease-chitin binding domain hybrid expressed in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Microb Pathog* 49(6):376–380. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2010.06.013>
- Fang W, Zhang Y, Yang X, Zheng X et al (2004) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Beauveria bassiana* using an herbicide resistance gene as a selection marker. *J Invertebr Pathol* 85(1):18–24. <https://www.doi.org/10.1016/j.jip.2003.12.003>
- Fang W, Leng B, Xiao Y, Jin K et al (2005) Cloning of *Beauveria bassiana* chitinase gene Bbchit1 and its application to improve fungal strain virulence. *Appl Environ Microbiol* 71(1):363–370. <https://www.doi.org/10.1128/AEM.71.1.363-370.2005>
- Fang W, Pei Y, Bidochka MJ (2006) Transformation of *Metarhizium anisopliae* mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. *Can J Microbiol* 52(7):623–626. <https://www.doi.org/10.1139/w06-014>
- Fang W, Feng J, Fan Y, Zhang Y et al. (2009) Expressing a fusion protein with protease and chitinase activities increases the virulence of the insect pathogen *Beauveria bassiana*. *J Invertebr Pathol* 102(2):155–159. <https://www.doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.013>
- Fang W, St. Leger RJ (2012) Enhanced UV Resistance and Improved Killing of Malaria Mosquitoes by Photolyase Transgenic Entomopathogenic Fungi. *PLoS ONE* 7(8):e43069. <https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0043069>
- Goettel MS, Koike M, Kim JJ, Aiuchi D et al (2008). Potential of *Lecanicillium spp.* for management of insects, nematodes and plant diseases. *J Invertebr Pathol* 98(3):256–261. <https://www.doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.009>
- Gressel J (2007) Failsafe mechanisms for preventing gene flow and organism dispersal of enhanced microbial biocontrol agents. In: Vurro M, Gressel J. Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. Dordrecht: Springer. 353–362
- Hasan S, Singh RI, Singh SS (2011) Development of Transformation System of *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium spp.*) (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Based on Nitrate Reductase Gene of *Aspergillus nidulans*. *Indian J Microbiol* 51(3):390–395
- Hooykaas PJJ, Schilperoort RA (1992) *Agrobacterium* and plant genetic engineering. *Plant Mol Biol* 19:15–38
- Hu J, Xia Y (2019) Increased virulence in the locust-specific fungal pathogen *Metarhizium acridum* expressing dsRNAs targeting the host F1F0 -ATPase subunit genes. *Pest Manag Sci* 75:180–186. <https://www.doi.org/10.1002/ps.5085>
- Inglis GD, Goettel MS, Butt TM, Strasser H (2001) Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds) Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. New York: CABI Publishing. 23–69
- Ishidoh K, Kinoshita H, Ihara F, Nihira T (2014) Efficient and versatile transformation systems in entomopathogenic fungus *Lecanicillium* species. *Current Genetics* 60(2):99–108. <https://www.doi.org/10.1007/s00294-013-0399-5>
- Jin K, Zhang Y, Luo Z, Xiao Y et al (2008) An improved method for *Beauveria bassiana* transformation using phosphinothricin acetyltransferase and green fluorescent protein fusion gene as a selectable and visible marker. *Biotechnol Lett* 30(8):1379–1383
- Kim JS, Choi JY, Lee SJ, Lee JH et al (2013) Transformation of *Beauveria bassiana* to produce EGFP in *Tenebrio molitor* for use as animal feed additives. *FEMS Microbiol Lett* 344:173–178. <https://www.doi.org/10.1111/1574-6968.12173>
- Koukaki M, Giannoutsou E, Karagouni A, Diallinas GA (2003) A novel improved method for *Aspergillus nidulans* transformation. *J Microbiol Meth* 55(3):687–695. [https://www.doi.org/10.1016/S0167-7012\(03\)00208-2](https://www.doi.org/10.1016/S0167-7012(03)00208-2)
- Krappmann S, Sasse C, Braus GH (2006) Gene targeting in *Aspergillus fumigatus* by homologous recombination is facilitated in a nonhomologous end-joining-deficient genetic background. *Euk Cell* 5(1):212–215. <https://www.doi.org/10.1128/EC.5.1.212-215.2006>
- Kuwano T, Shirataki C, Itoh Y (2008) Comparison between polyethylene glycol- and polyethylenimine-mediated transformation of *Aspergillus nidulans*. *Curr Genet* 54(2):95–103
- Li J, Ying SH, Shan LT, Feng MG (2010) A new non-hydrophobic cell wall protein (CWP10) of *Metarhizium anisopliae* enhances conidial hydrophobicity when expressed in *Beauveria bassiana*. *Appl Microbiol Biotechnol* 85(4):975–984
- Liu Z, Friesen TL (2012) Polyethylene glycol (PEG)-mediated transformation in filamentous fungal pathogens. *Meth Mol Biol* 835:365–375. https://www.doi.org/10.1007/978-1-61779-501-5_21
- Lovett B, St Leger RJ (2018) Genetically engineering better fungal biopesticides. *Pest Manag Sci* 74(4):781–789. <https://www.doi.org/10.1002/ps.4734>
- Lu D, Pava-Ripoll M, Li Z, Wang C (2008) Insecticidal evaluation of *Beauveria bassiana* engineered to express a scorpion neurotoxin and a cuticle degrading protease. *Appl Microbiol Biotechnol* 81(3):515–522. <https://www.doi.org/10.1007/s00253-008-1695-8>
- Ninomiya Y, Suzuki K, Ishii C, Inoue H (2004) Highly efficient gene replacements in *Neurospora* strains deficient for nonhomologous end-joining. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(33):12248–12253. <https://www.doi.org/10.1073/pnas.0402780101>
- Padilla-Guerrero IE, Bidochka MJ (2017) *Agrobacterium*-mediated co-transformation of multiple genes in *Metarhizium robertsii*. *Mycobiology* 45(2):84–89. <https://www.doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.2.84>
- Rangel DE, Anderson AJ, Roberts DW (2008) Evaluating physical and nutritional stress during mycelial growth as inducers of tolerance to heat and UV-B radiation in *Metarhizium anisopliae* conidia. *Mycol Res* 112(11):1362–1372. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2008.04.013>
- Ruiz-Díez B. (2002) Strategies for the transformation of filamentous fungi. *J App Microbiol* 92(2):189–195. <https://www.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01516.x>
- Timofeev S, Tsarev A, Senderskiy I, Rogozhin E et al (2019) Efficient transformation of the entomopathogenic fungus

- Lecanicillium muscarium* by electroporation of germinated conidia. *Mycoscience* 60(3):197–200. <https://www.doi.org/10.1016/j.myc.2019.02.010>
- Tomas MB, Read AF (2007) Can fungal biopesticides control malaria? *Nat. Rev. Microbiol.* 5(5):377–383. <https://www.doi.org/10.1038/nrmicro1638>
- Wu J, Ridgway H, Carpenter M, Glare T (2008) Efficient transformation of *Beauveria bassiana* by *Agrobacterium tumefaciens*-mediated insertional mutagenesis. *Plant Pathol* 37:537–542
- Xie M, Zhang YJ, Zhai XM, Zhao JJ et al (2015) Expression of a scorpion toxin gene BmKit enhances the virulence of *Lecanicillium lecanii* against aphids. *J Pest Sci* 88(3):637–644. <https://www.doi.org/10.1007/s10340-015-0644-4>
- Xie XQ, Wang J, Huang BF, Ying SH, Feng MG (2010) A new manganese superoxide dismutase identified from *Beauveria bassiana* enhances virulence and stress tolerance when overexpressed in the fungal pathogen. *Appl Microb Biotech* 86(5):1543–1553.
- Xie M, Zhang YJ, Zhang XL, Peng DL (2016) Genetic improvement of the nematocidal fungus *Lecanicillium attenuatum* against *Heterodera glycines* by expression of the *Beauveria bassiana* Cdep1 protease gene. *J Invertebr Pathol* 138:86–88. <https://www.doi.org/10.1016/j.jip.2016.06.008>
- Xu C, Zhang X, Qian Y, Chen X, Liu R, et al (2014) A High-Throughput Gene Disruption Methodology for the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium robertsii*. *PLoS ONE* 9(9): e107657. <https://www.doi.org/10.1371/journal.pone.0107657>
- Ying SH, Feng MG (2006) Medium components and culture conditions affect the thermotolerance of aerial conidia of fungal biocontrol agent *Beauveria bassiana*. *Lett Appl Microbiol* 43:331–335. <https://www.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.01947.x>
- Ying SH, Feng MG (2011) Integration of *Escherichia coli* thioredoxin (trxA) into *Beauveria bassiana* enhances the fungal tolerance to the stresses of oxidation, heat and UV-B irradiation. *Biol Control* 59(2):255–260. <https://www.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.07.005>
- Ying SH, Feng MG, Keyhani NO (2013) Use of uridine auxotrophy (ura3) for markerless transformation of the mycoinsecticide *Beauveria bassiana*. *Appl Microbiol Biotechnol* 97(7):3017–3025
- Ypsilos IK, Magan N (2005) Characterisation of optimum cultural environmental conditions for the production of high numbers of *Metarhizium anisopliae* blastospores with enhanced ecological fitness. *Biocontrol Sci Technol* 15(7):683–699. <https://www.doi.org/10.1080/09583150500136774>
- Yu SJ, Pan Q, Luo R, Wang CL et al (2019) Expression of exogenous dsRNA by *Lecanicillium attenuatum* enhances its virulence to *Dialeurodes citri*. *Pest Manag Sci* 75: 1014–1023. <https://www.doi.org/10.1002/ps.5210>
- Zhang S, Fan Y, Xia YX, Keyhani NO (2010) Sulfonylurea resistance as a new selectable marker for the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl Microbiol Biotechnol* 87(3):1151–1156
- Zhang Y-J, Zhao J-J, Xie M, Peng D-L (2014) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation in the entomopathogenic fungus *Lecanicillium lecanii* and development of benzimidazole fungicide resistant strains. *J Microbiol Methods* 105:168–173. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.07.033>
- Zhang Y-J, Xie M, Zhang XL, Peng D-L et al (2016) Establishment of polyethylene-glycol-mediated protoplast transformation for *Lecanicillium lecanii* and development of virulence-enhanced strains against *Aphis gossypii*. *Pest Manag Sci* 72:1951–1958. <https://www.doi.org/10.1002/ps.4236>

Translation of Russian References

- Borisov BA, Serebrov VV, Novikova II, Boykova IV (2001) *Entomopatogennye askomitsety i deyteromitsety*. In: Glupov VV (ed) [Insect pathogens: structural and functional aspects] M.: Kruglyy god. 76–188 (In Russian)

Plant Protection News, 2019, 2(100), p. 7–14

OECD+WoS: 1.06+RQ

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-7-14](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-7-14)

Full-text review

TRANSFORMATION OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI: A METHODOLOGICAL REVIEW

S.A. Timofeev*, V.S. Zhuravlev, V.V. Dolgikh

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author, e-mail: ts-bio@ya.ru

Entomopathogenic fungi are widely used as an environmentally friendly alternative to chemical pesticides against pests and vectors of human diseases. One of the promising ways to increase the efficiency of biopesticides based on filamentous fungi is their genetic modification. Genetic transformation allows increasing the virulence of the strains used, as well as their resistance to abiotic environmental factors. This review presents modern methods of transformation of entomopathogenic anamorph ascomycetes: polyethylene glycol-mediated transformation of protoplasts, agrobacteria-based transformation, electroporation of germinated conidia, and chemical transformation of blastospores. A comparative analysis of these methods has shown that agrobacterial transformation is the most universal method widely described for various types of mycelial pathogens of insects, including representatives of the genera *Beauveria*, *Metarhizium* and *Lecanicillium*. At the same time, the simplest and least time-consuming method of chemical transformation of blastospores is currently used only for *B. bassiana*. The review also describes the methods of inserted sequences recombination into the genome of fungi and the genetic markers for negative and positive selection of modified organisms.

Key words: entomopathogenic fungi, transformation, plant protection, protoplasts, agrobacteria, electroporation

Received: 03.02.2019

Accepted: 30.05.2019

ФИТОСАНИТАРНОЕ РАЙОНИРОВАНИЕ СОРНЫХ РАСТЕНИЙ НА МАКРОУРОВНЕ НА ПРИМЕРЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РОССИИ

Н.Н. Лунева*¹, Ю.А. Федорова²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, институт наук о Земле, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: natalja.luneva2010@yandex.ru

Сорные растения являются компонентами растительных сообществ вторичных местообитаний и по сути остаются дикорастущими растениями, распространение которых обусловлено, в первую очередь, природными факторами, главными из которых являются тепло- и влагообеспеченность территории произрастания, а не привязка к определенной сельскохозяйственной культуре. На основе сопоставления показателей факторов тепла и влаги, лимитирующих распространение каждого отдельного вида сорных растений в северном и южном направлении на территории РФ, с показателями тепло- и влагообеспеченности территории Северо-Западного экономического района выявлен комплекс видов сорных растений, для которых эта территория является подходящей по условиям тепло- и влагообеспеченности. Достоверность видового состава комплекса подтверждена многочисленными данными собственных полевых исследований в Северо-Западном регионе. С использованием ГИС смоделированы территории (в пределах РФ), аналогичные по совокупности показателей тепло- и влагообеспеченности территориям областей Северо-Западного экономического района. С использованием материалов научных публикаций подтверждено произрастание видов выявленного комплекса и объяснено отсутствие некоторых из них на смоделированных территориях. Представлен алгоритм фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений на региональном уровне, позволяющий разрабатывать многолетний прогноз формирования видового состава сорных растений на определенных территориях.

Ключевые слова: сорные растения, распространение, прогнозирование, картирование, защита растений

Поступила в редакцию: 11.04.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Введение

Многочисленная группа видов сорных растений содержит лишь небольшое количество специализированных видов, произрастающих, преимущественно, в посевах определенной сельскохозяйственной культуры, а подавляющая часть сорных растений засоряет посевы (посадки) различных культур. На территории агроэкосистемы или севооборота произрастает большое количество видов сорных растений, которые под воздействием особенностей технологий возделывания по-разному проявляют себя в разных культурах, последовательно возделываемых на одном и том же контуре поля. Кроме того, одни и те же виды сорных растений произрастают и в агрофитоценозах, и в сообществах синантропных местообитаний агроэкосистем (Миркин и др., 2003), а также на рудеральных местообитаниях вне агроэкосистем. Следовательно, фитосанитарное районирование в отношении сорных растений нельзя основывать на привязке их к определенным возделываемым культурам. Вместе с тем, изучение распространения видов сорных растений в масштабах крупных регионов неразрывно связано с агроэкологическим районированием территории страны (Принципы..., 2015), поскольку сорные растения являются обязательным компонентом агрофитоценозов посевов и посадок сельскохозяйственных культур. Не привязывая виды сорных растений к определенным возделываемым культурам, тем не менее,

в основу фитосанитарного районирования в отношении сорных растений можно положить принципы агроэкологического районирования территории, основным из которых является принцип равнозначности и незаменимости действия природных и антропогенных факторов. Сорные растения, являясь компонентами растительных сообществ антропогенно сформированных местообитаний, по сути, остаются дикорастущими растениями (Лунева, 2018), распространение которых обусловлено, в первую очередь, природными факторами, главными из которых являются тепло- и влагообеспеченность территории произрастания (Алехин и др., 1961).

Принцип равнозначности и незаменимости действия природных и антропогенных факторов к фитосанитарному районированию территорий в отношении сорных растений реализуется с учетом степени влияния этих факторов на распространенность сорных растений на разных системных уровнях (макро, мезо и микро). Распространение видов сорных растений на уровне крупных регионов регулируется основными климатическими факторами (соответствием уровня тепло- и влагообеспеченности территории уровню требовательности видов к факторам тепла и влаги), то есть, районирование на макроуровне осуществляется на основе, так называемой, фоновой характеристики (Принципы..., 2015).

Материалы и методы

Для анализа были использованы материалы «Агроэкологического атласа России и сопредельных стран» (Афонин и др., 2008): электронные карты ареалов видов сорных

растений на территории СНГ (за исключением видов, распространенных в пределах территорий Средней Азии и Закавказья), а также карты показателей распределения тепла

(сумма активных температур (САТ) выше + 5 °С) и влаги (показатели гидротермического коэффициента – ГТК) для этой же территории. Дополнительно были построены векторные карты зон распространения еще ряда видов на территории России по сведениям, содержащимся в литературных источниках открытого доступа с использованием программы MapInfo 16.0. (масштаб карты 1:20.000.000, проекция «Равновеликая Альберса на СССР») и, в целом, было проанализировано распространение 157 видов. Основным критерием отбора объектов исследования явилось указание в научных публикациях этих видов, как сорных растений, часто засоряющих посевы сельскохозяйственных культур в разных регионах РФ.

Использованный метод эколого-географического анализа включает два этапа. На первом этапе были определены показатели факторов, лимитирующих распространение каждого вида в северном и южном направлении (путем наложения карты ареала каждого вида сорных растений на карты распределения факторов тепла и влаги). На втором этапе эти данные были сопоставлены с показателями тепло- и влагообеспеченности территории областей Северо-Западного экономического района и выявлен список видов, для которых эта территория является подходящей по условиям тепло- и влагообеспеченности.

Результаты

В состав Северо-Западного экономического района входят Ленинградская, Новгородская и Псковская области. Влагообеспеченность территорий незначительно снижается в направлении от Ленинградской области, расположенной севернее остальных рассматриваемых областей (изолиния по ГТК 1.8), к Псковской области, южная граница которой описывается изолинией ГТК 1.72. Теплообеспеченность территорий возрастает в южном направлении: от 1854 °С по изолинии среднегодовой суммы температур (САТ) выше +5 °С, описывающей северную границу Ленинградской области, до значения 2087 °С аналогичной изолинии по северной границе Псковской области (табл. 1).

Сопоставление этих показателей с показателями факторов, лимитирующих распространение каждого из 157 проанализированных видов сорных растений в

Таблица 1. Показатели изолиний, описывающих северные (САТ выше +5 °С) и южные (ГТК) границы областей Северо-Западного экономического района

Показатели	ГТК min	ГТК max	ГТК avg	t min	t max	t avg
Ленинградская область						
северная граница	1.63	2.05	1.78	1736	1947	1854
южная граница	1.51	2.06	1.78	1838	2129	2044
Новгородская область						
северная граница	1.67	1.93	1.78	1871	2220	1951
южная граница	1.53	2.10	1.75	1954	2258	2120
Псковская область						
северная граница	1.63	1.91	1.78	2071	2125	2097
южная граница	1.67	1.80	1.72	2144	2231	2196

Моделирование территории, аналогичной по совокупности показателей тепло- и влагообеспеченности территориям областей Северо-Западного экономического района, осуществлено с использованием программы IDRISI Selva 17.0. Для моделирования территории использовались карты САТ выше +5 °С и ГТК. Была произведена реклассификация по диапазону значений ГТК и сумм температур на северной и южной границах областей Северо-Западного экономического района. После этого выделенные зоны с помощью операции умножения были соединены в одну, подходящую одновременно по двум факторам. Карты были векторизованы в MapInfo 16.0 для удобства интерпретации и визуализации.

Названия видов сорных растений приведены в соответствии с требованиями современной ботанической номенклатуры (Лунева, Мыслик, 2018), за исключением видов рода Бодяк *Cirsium* Mill., поскольку собственные полевые исследования в разных регионах России дают основание считать три географические расы бодяка полевого, отличающиеся по морфологическим признакам и географическому расположению, видами и приводить их названия в соответствии со сводкой С.К. Черепанова: бодяк полевой *Cirsium arvense* (L.) Scop., бодяк седой *Cirsium incanum* (S.G.Gmel.) Fisch., бодяк щетинистый *Cirsium setosum* (Willd.) Bess. (Черепанов, 1995).

северном и южном направлении на территории РФ, выявило следующее.

Территория Северо-Западного экономического района является подходящей по условиям водного режима для всех видов сорных растений из анализируемого комплекса – в этом регионе лимитирующим фактором является фактор теплообеспеченности территории. Анализ на соответствие указанной территории требовательности видов к условиям теплообеспеченности выявил, что территория подходит для произрастания 128 видов сорных растений, из которых 118 являются общими для трех областей Северо-Западного экономического района, которые мы назовем условно «ядром». Это следующие виды (в порядке возрастания их требовательности к фактору тепла): щавель длиннолистный *Rumex longifolius* DC., хвощ полевой *Equisetum arvense* L., жерушник болотный *Rorippa palustris* (L.) Bess., желтушник лакфиолевый *Erysimum cheiranthoides* L., лютик ползучий *Ranunculus repens* L., гречишка вьюнковая *Fallopia convolvulus* (L.) A. Löve, кульбаба осенняя *Leontodon autumnalis* L., клевер ползучий *Trifolium repens* L., иван-чай узколистный *Chamaenerion angustifolium* (L.) Scop, марь белая *Chenopodium album* L., дескурайния Софьи *Descurainia Sophia* (L.) Webb ex Prantl, горошек мышиный *Vicia cracca* L., хвощ луговой *Equisetum pratense* Ehrh., лапчатка гусиная *Potentilla anserina* L., смолевка белая *Silene pratensis* (Rafn) Godr., щавель кислый *Rumex acetosa* L., горец птичий *Polygonum aviculare* L., подорожник большой *Plantago major* L., мятлики однолетний *Poa annua* L., скерда кровельная *Crepis tectorum* L., ярутка полевая *Thlaspi arvense* L., щавель кисленький *Rumex acetosella* L., клевер луговой *Trifolium pratense* L., звездчатка злаковая *Stellaria graminea* L., редька дикая *Raphanus raphanistrum* L., сныть обыкновенная *Aegopodium podagraria* L., полынь обыкновенная *Artemisia*

vulgaris L., тысячелистник птармика *Achillea ptarmica* L., купырь лесной *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm., ясколка ключевая *Cerastium fontanum* Baumg., мята полевая *Mentha arvensis* L., щавель длиннолистный *Rumex longifolius* DC., ромашка пахучая *Matricaria discoidea* DC., звездчатка средняя *Stellaria media* (L.) Vill., чистец болотный *Stachys palustris* L., пастушья сумка обыкновенная *Capsella bursa-pastoris* (L.) Medik., бодяк щетинистый *Cirsium setosum* (Willd.) Bess., фиалка трехцветная *Viola tricolor* L., капуста полевая *Brassica campestris* L., смолевка обыкновенная *Silene vulgaris* (Moench) Garcke, льнянка обыкновенная *Linaria vulgaris* Mill., тростник южный *Phragmites australis* (Cav.) Trin.ex. Steud., дымянка лекарственная *Fumaria officinalis* L., пижма обыкновенная *Tanacetum vulgare* L., ситник жабий *Juncus bufonius* L., мать-и-мачеха обыкновенная *Tussilago farfara* L., тысячелистник обыкновенный *Achillea millefolium* L., незабудка полевая *Myosotis arvensis* (L.) Hill., пырей ползучий *Elytrigia repens* (L.) Nevski, фиалка полевая *Viola arvensis* Murr., крестовник обыкновенный *Senecio vulgaris* L., подорожник средний *Plantago media* L., пикульник двурасщепленный *Galeopsis bifida* Woenner, колокольчик раскидистый *Campanula patula* L., пикульник красивый *Galeopsis speciosa* Mill., нивяник обыкновенный *Leucanthemum vulgare* Lam., осот полевой *Sonchus arvensis* L., сушеница топяная *Gnaphalium uliginosum* L., частуха подорожниковая *Alisma plantago-aquatica* L., желтец лекарственный *Velarum officinale* (L.) Reichb., крапива жгучая *Urtica urens* L., горец щавелелистный *Persicaria lapathifolia* (L.) Delarbre, трехреберник запаховый *Tripleurospermum inodorum* (L.) Sch. Bip., гречиха татарская *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn., бородавник обыкновенный *Lapsana communis* L., горец перечный *Persicaria hydropiper* (L.) Delarbre, сурепка дуговидная *Barbarea arcuata* (OpizexJ. et C. Presl) Reichb., рыжик мелкоплодный *Camelina microcarpa* Andrzej., блитум сизый *Blitum glaucum* (L.) W.D.J. Koch, череда трехраздельная *Bidens tripartita* L., метлица обыкновенная *Apera spica-venti* (L.) Beauv., подорожник ланцетный *Plantago lanceolata* L., аистник цикутовый *Erodium cicutarium* (L.) L'Herit., гулявник высокий *Sisymbrium altissimum* L. одуванчик лекарственный *Taraxacum officinale* Wigg., дивала однолетняя *Scleranthus annuus* L., горчица полевая *Sinapis arvensis* L., пикульник ладанниковый *Galeopsis ladanum* L., ясколка полевая *Cerastium arvense* L., вьюнок полевой *Convolvulus arvensis* L., пупавка красильная *Anthemis tinctoria* L., горошек волосистый *Vicia hirsuta* (L.) S. F. Gray., полевика гигантская *Agrostis gigantea* Roth., яснотка пурпурная *Lamium purpureum* L., василек синий *Centaurea cyanus* L., молочай прутьевидный *Euphorbia virgata* Waldst. et Kit., горошек четырехсемянный *Vicia tetrasperma* (L.) Schreb., мелколестник канадский *Erigeron canadensis* L., пикульник обыкновенный *Galeopsis tetrahit* L., липучка растопыренная *Lappula squarrosa* (Retz.) Dumort, торица полевая *Spergula arvensis* L., щавель курчавый *Rumex crispus* L., сокирки великолепные *Consolida regalis* S.F. Gray, бодяк полевой *Cirsium arvense* (L.) Scop., василек луговой *Centaurea jacea* L., блитум красный *Blitum rubrum* (L.) Reichb., костер ржаной *Bromus secalinus* L., овес пустой *Avena fatua* L. s. l., змеевик большой *Bistorta major* S.F. Gray, блитум многосемянный *Blitum polyspermum* (L.) T.A. Theodorova, comb. nov., молочай солнцегляд *Euphorbia helioscopia* L.,

щетинник зеленый *Setaria viridis* (L.) Beauv. s.l., осот шероховатый *Sonchus asper* (L.) Hill., щирица назадзапрокинутая *Amaranthus retroflexus* L., горец льняной *Persicaria linicola* (Sutulov) Nenukow ex Büscheret G.H. Loos, чина клубневая *Lathyrus tuberosus* L., паслен черный *Solanum nigrum* L., неслия метельчатая *Neslia paniculata* (L.) Desv., галинзога мелкоцветковая *Galinsoga parviflora* Cav., ежовник обыкновенный *Echinochloa crusgalli* (L.) Beauv., зверобой продырявленный *Hypericum perforatum* L., подмаренник цепкий *Galium aparine* L., щирица жминдовидная *Amaranthus blitoides* S. Watson, плевел расставленный *Lolium remotum* Schrad., чертополох поникший *Carduus nutans* L., белена черная *Hyoscyamus niger* L., яснотка стеблеобъемлющая *Lamium amplexicaule* L., горчица сарептская *Brassica juncea* (L.) Czern.

Проанализировано распространение 9 видов сорных растений, не вошедших в «ядро», а также видов «ядра», находящихся на северном пределе своего распространения на территории областей Северо-Западного экономического района. Из них 3 вида – марь шведская, лебеда татарская, чертополох колючий – на территории Псковской области находятся на северном пределе своего распространения, но отсутствуют или могут встречаться единично на территории Новгородской и Ленинградской областей, расположенных севернее. Такие виды, как воробейник полевой и щетинник сизый, еще встречаются на территории Псковской и Новгородской областей, но практически отсутствуют на территории Ленинградской области (табл. 2).

Для таких видов, как воловик полевой, латук татарский, латук компасный и горошек мохнатый, достаточно тепла на территории Псковской области, на пределе требовательности этих видов к режиму тепла Новгородская область и не подходит Ленинградская.

По территориям Новгородской и Ленинградской областей, в пределах их северных и южных границ, проходят изолинии, описывающие северные границы основного распространения подмаренника цепкого, щирицы жминдовидной, плевела расставленного, чертополоха поникшего, белены черной, яснотки стеблеобъемлющей, горчицы сарептской, следовательно, территории этих областей в какой-то мере еще подходят для их произрастания, в отличие от Псковской области, вполне соответствующей потребностям этих видов в тепле.

И, наконец, выделяется большая группа видов, для которых Псковская и Новгородская области оптимально подходят по тепловому режиму, а Ленинградская – относительно. Это следующие виды: змеевик большой, блитум многосемянный, молочай солнцегляд, щетинник зеленый, осот шероховатый, щирица назадзапрокинутая, горец льняной, чина клубневая, паслен черный, неслия метельчатая, галинзога мелкоцветковая, ежовник обыкновенный, зверобой продырявленный.

Особо следует остановиться на нескольких видах, для которых, по результатам анализа, территория Северо-Западного экономического района является подходящей по условиям тепло- и влагообеспеченности, но которые отсутствуют здесь. Это дисфания остистая *Dysphania aristata* (L.) Mosyakin et Clemants и аксирис щирицевый *Axyris amaranthoides* L. – виды юго-восточного происхождения, зона основного распространения которых расположена в

Таблица 2. Распределение отдельных видов из смоделированных комплексов сорных растений трех областей Северо-Западного экономического района

Названия видов и границ областей	САТ	Названия областей		
		ПО	НО	ЛО
Северная граница ЛО	1854			
Змеевик большой <i>Bistorta major</i>	1855	+	+	М
Блитум многосемянный <i>Blitum polyspermum</i>	1858	+	+	М
Молочай солнцегляд <i>Euphorbia helioscopia</i>	1862	+	+	М
Щетинник зеленый <i>Setaria viridis</i>	1873	+	+	М
Осот шероховатый <i>Sonchus asper</i>	1886	+	+	М
Щирица назадзапрокинутая <i>Amaranthus retroflexus</i>	1892	+	+	М
Горец льняной <i>Persicaria linicola</i>	1903	+	+	М
Чина клубневая <i>Lathyrus tuberosus</i>	1904	+	+	М
Паслен черный <i>Solanum nigrum</i>	1908	+	+	М
Неслия метельчатая <i>Neslia paniculata</i>	1923	+	+	М
Галинзога мелкоцветковая <i>Galinsoga parviflora</i>	1926	+	+	М
Ежовник обыкновенный <i>Echinochloa crusgalli</i>	1933	+	+	М
Зверобой продырявленный <i>Hypericum perforatum</i>	1949	+	+	М
Северная граница НО	1951			
Подмаренник цепкий <i>Galium aparine</i>	1970	+	М	М
Щирица жминдовидная <i>Amaranthus blitoides</i>	1985	+	М	М
Плевел расставленный <i>Lolium remotum</i>	1985	+	М	М
Чертополох поникший <i>Carduus nutans</i>	1987	+	М	М
Белена черная <i>Hyoscyamus niger</i>	2015	+	М	М
Яснотка стеблеобъемлющая <i>Lamium amplicaula</i>	2027	+	М	М
Горчица сарептская <i>Brassica juncea</i>	2028	+	М	М
Южная граница ЛО	2044			
Воловик полевой <i>Anchusa arvensis</i> (L.) Vieb.	2076	+	М	-
Латук татарский <i>Lactuca tatarica</i> (L.) С.А. Меу.	2078	+	М	-
Латук компасный <i>Lactuca serriola</i> L.	2085	+	М	-
Горошек мохнатый <i>Vicia villosa</i> Roth.	2093	+	М	-
Северная граница ПО	2097			
Воробейник полевой <i>Lithospermum arvense</i> L.	2103	М	М	-
Щетинник сизый <i>Setaria pumila</i> (Poir.) Roem. et Schult.	2107	М	М	-
Южная граница НО	2120			
Марь шведская <i>Chenopodium suecicum</i> J. Murr	2138	М	-	-
Лебеда татарская <i>Atriplex tatarica</i> L.	2157	М	-	-
Чертополох колючий <i>Carduus acanthoides</i> L.	2197	М	-	-
Южная граница ПО	2196			

Условные обозначения: ЛО – Ленинградская область, НО – Новгородская область, ПО – Псковская область, + – вид произрастает на территории области, М – показатели изолинии, описывающей северную границу зоны основного распространения вида сорного растения, находятся в пределах показателей изолиний, описывающих северную и южную границы отдельной области.

южных районах Урала, Сибири и Дальнего Востока. Географическая отдаленность территории произрастания этих видов от Северо-Западного региона является препятствием для их попадания на вторичные местообитания трех анализируемых областей. Однако, в случае преднамеренного или непреднамеренного заноса, эти виды найдут здесь достаточный уровень тепло- и влагообеспеченности территории. Это относится также к дальневосточному виду латуку сибирскому *Lactuca sibirica* (L.) Benth. ex Maxim., произрастающему на территории от северо-востока Европейской части РФ до Дальнего Востока.

Таким образом, территория Псковской области является подходящей по условиям тепло- и влагообеспеченности для 128 видов сорных растений, территория Новгородской – для 124, а территория Ленинградской для 118 видов из 128 видов комплекса сорных растений Северо-Западного экономического района.

Для 29 из 157 проанализированных видов сорных растений территория Северо-Западного экономического района оказалась не подходящей по условиям тепло- и влагообеспеченности. Для дальневосточных видов чистец шершавый *Stachys aspera* Michx. (ГТК = 1.81) и, зюзник блестящий *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth. (ГТК = 1.95), а также восточно-европейского бодяка полевого (ГТК = 1.81) на анализируемой территории недостаточно влаги. Для 26 видов здесь недостаточен уровень теплообеспеченности. Это такие виды (в скобках указаны значения САТ, лимитирующих распространение видов в северном направлении): чертополох поникший *Carduus nutans* L. (2197), просо сорное *Panicum miliaceum* subsp. *rudiverale* (Kitagawa) Tzvelev. (2215), циклахена дурнишниковидная *Cyclachaena xanthiifolia* (Nutt.) Fresen. (2226), дурнишник обыкновенный *Xanthium strumarium* L. (2245), чистец однолетний *Stachys annua* (L.) L. (2254), заразиха подсолнечниковая *Orobanche cumana* Wallr. (2272), вязель разноцветный *Coronilla varia* L. (2335), резак обыкновенный *Falcaria vulgaris* Bernh. (2362), хориспора нежная *Chorispora tenella* (Pallas) DC. (2394), сердечница крупковая *Cardaria draba* (L.) Desv. (2424), заразиха ветвистая *Orobanche ramosa* L. (2429), липучка отклоненная *Lappula patula* (Lehm.) Menyharth (2484), бодяк седой *Cirsium incanum* (S.G. Gmel.) Fisch. (2608), железница горная *Sideritis montana* L. (2684), подсолнечник чечевичный *Helianthus lenticularis* Dougl. ex Lindl. (2909), дымянка Вайана (2940), амброзия односторонне-опушенная *Ambrosia psilostachya* DC. (3122), дурнишник колючий *Xanthium spinosum* L. (3201), ежовник рисовидный *Echinochloa oryzoides* (Ard.) Fritsch (3454), додарция восточная *Dodartia orientalis* L. (3475), канатник Теофраста *Abutilon theophrastii* Medik. (3536), воловик восточный *Anchusa orientalis* L. (3736), просо алеппское *Sorghum halepense* (L.) Pers. (3809).

Верификация полученных результатов осуществлена по материалам собственных обследований агрофитоценозов в указанных областях (Лунева и др., 2004, 2007, 2009; Лунева, Мыслик, 2015; Мыслик и др., 2015; Лунева, 2016, 2017 и др.); по сведениям, представленным в научных публикациях (Аспидова, 1966; Баранова и др., 1970; Миняев и др., 1981; Ульянова, 1981, 1988; Ульянова и др., 1992; Цвелев, 2000 и др.) и по данным гербарных коллекций (Гербарий сосудистых растений Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (LE), Гербарий кафедры ботаники

Санкт-Петербургского государственного университета (ЛЕСВ), Гербарий культурных растений мира и их диких родичей (включая сорные) Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства им НИ Вавилова (ВИР). Подтверждено произрастание всех видов смоделированного регионального комплекса на территории

вышеназванных областей. Виды, для которых анализируемая территория не является подходящей для произрастания, не были зарегистрированы в ходе мониторинговых обследований, и не приведены во флористических списках указанных научных публикаций для Северо-Западного региона.

Обсуждение

Собственные полевые исследования в других областях Северо-Западного региона, а также данные научных публикаций по изучению сеgetального элемента флоры рядом расположенных областей (Шлякова, 1982; Орлова, 1997; Кравченко, 2007) свидетельствуют о том, что виды, входящие в состав прогностической модели для территории трех обследованных нами областей, регистрируются и на этих прилегающих территориях.

Для того, чтобы определить границы территории, в пределах которой могут произрастать виды смоделированного

выше регионального комплекса, необходимо осуществить выделение на карте РФ территории, аналогичной по показателям параметров основных экологических факторов, а именно – по совокупности показателей факторов тепла и влаги, характеризующих общую территорию трех областей: Ленинградской (ЛО), Псковской (ПО), Новгородской (НО). Спрогнозированная зона очерчивает прерывистую территорию, простирающуюся через северо-Восточный регион европейской части РФ, Урал и Сибирь до Дальнего Востока (рис.).

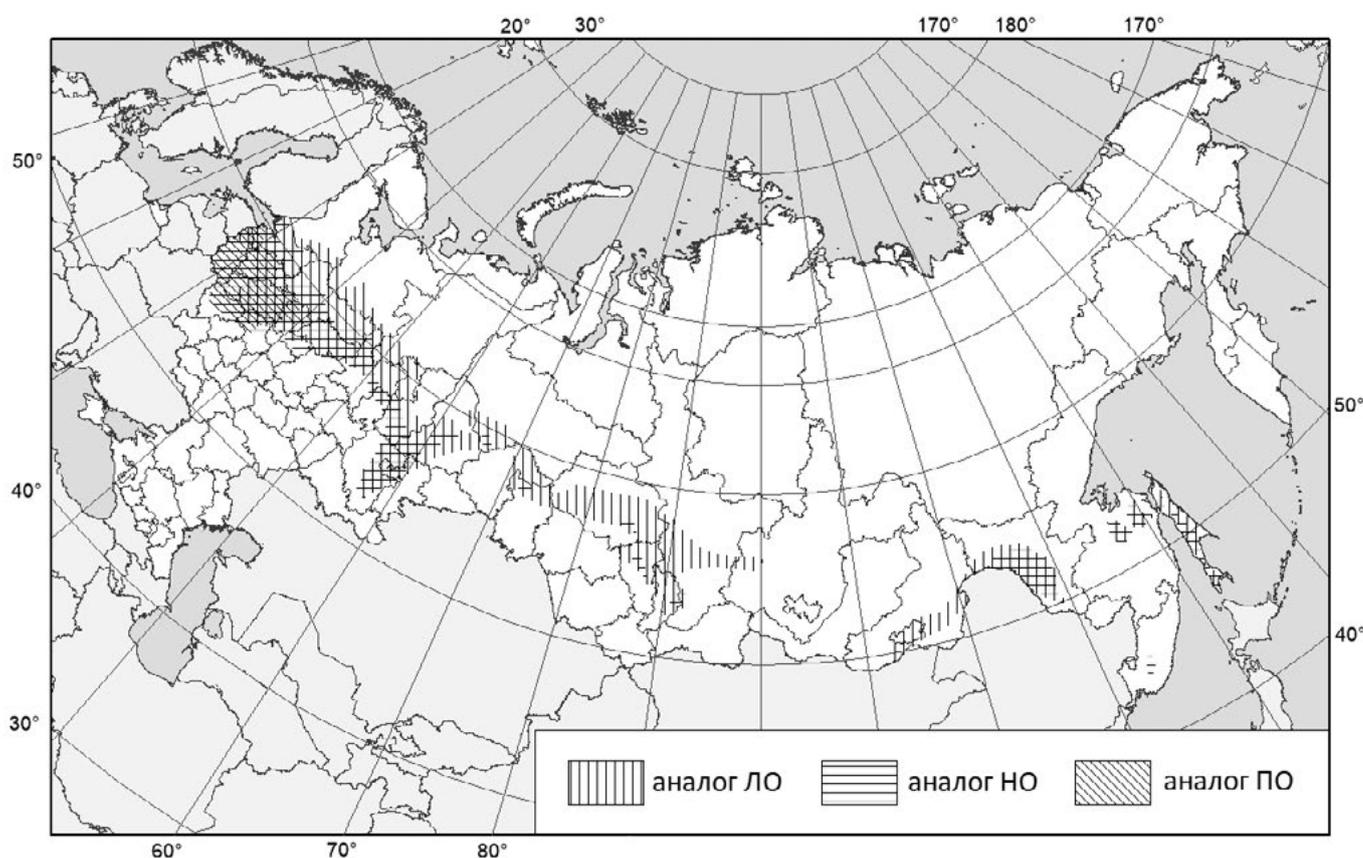


Рисунок. Территории, по совокупности факторов тепла и влаги аналогичные территориям Ленинградской (аналог ЛО), Новгородской (аналог НО) и Псковской областей (аналог ПО) (в пределах территории РФ)

Полученные результаты позволяют прогнозировать на территориях, аналогичных по совокупности факторов тепло- и влагообеспеченности Северо-Западному экономическому району, произрастание видов сорных растений, представленность которых на территории Ленинградской, Новгородской и Псковской областей обоснована выше.

При этом на территориях, аналогичных по совокупности показателей факторов тепла и влаги территории Ленинградской области, прогнозируется распространение 118 видов «ядра». Верификация полученных результатов осуществлена с использованием данных научных публикаций, характеризующих видовой состав сорной флоры областей – аналогов рассмотренных выше областей по

совокупности факторов тепла и влаги. Так, произрастание на территории Вологодской области видов сорных растений, зарегистрированных в Ленинградской области, подтверждено данными собственных исследований и научных публикаций (Орлова, 1997). Анализ флористических списков еще трех областей, значительные площади территорий которых являются аналогами Ленинградской области, а именно – Кировской (Александров и др., 1974, 1975), Пермской (Овеснов и др., 2007), Кемеровской (Красноборов и др., 2001) подтвердил присутствие в составе этих региональных флор вышеуказанных 118 видов (с разным уровнем частоты встречаемости). Отсутствие в составе флоры острова Сахалин 43 видов сорных растений

из прогнозируемого комплекса объясняется тем, что это виды, проникающие на территорию РФ с запада, к настоящему времени либо не заняли свой экологический ареал в продвижении на восток, либо существуют дополнительные факторы, препятствующие этому продвижению. Это такие виды, как, сныть обыкновенная, щирца жминдовидная, пупавка красильная, метлица обыкновенная, лебеда татарская, сурепка дуговидная, воробейник полевой, рыжик мелкосемянный, чертополохи акантовый и поникший, васильки синий и луговой, блитумы многосемянный и красный, марь шведская, сокирки великолепные, вьюнок полевой, дескурайния Софьи, молочай солнцегляд, дымянка лекарственная, пикульники ладанниковый и обыкновенный, подмаренник цепкий, белена черная, латуки татарский и компасный, яснотки стеблеобъемлющая и пурпурная, чина клубневая, плевел расставленный, мята полевая, незабудка полевая, горец льняной, змеевик большой, тысячелистник птармика, щавель курчавый, горчица полевая, гулявник высокий, звездчатка злаковая, мать-и-мачеха обыкновенная, горошки четырехсемянный и мохнатый (Воробьев и др., 1974).

На территории Тверской и Ярославской областей, аналогичной по факторам тепла и влаги областям Северо-Западного экономического района, подтверждено произрастание 118 видов вышеназванного «ядра», а также видов,

находящихся на территории Новгородской области на северном пределе своего распространения (воловик полевой, латук татарский, латук компасный, горошек мохнатый, воробейник полевой, щетинник сизый) и видов, указанных для Псковской области (чертополох акантовый, горошек мохнатый) (Беловашина и др., 1961; Нотов, 2005). Отсутствие во флористическом списке Ярославской области галинзоги мелкоцветковой объясняется тем, что этот вид начал быстро распространяться лишь в начале третьего тысячелетия и не мог попасть в список 1961 г., однако его наличие в более позднем флористическом списке расположенной рядом Тверской области (Нотов, 2005), позволяет предполагать произрастание галинзоги мелкоцветковой в настоящее время и на территории Ярославской области. Особо следует отметить редкую встречаемость нескольких видов, находящихся на территории этих областей на северо-восточном пределе своего распространения, таких как: щирца жминдовидная, горчица сарептская, рыжик мелкоплодный, горец льняной, гулявник высокий, щавель длиннолистный, горошек мохнатый. Эти же виды характеризуются либо редкой встречаемостью, либо они отсутствуют на территории Костромской и Смоленской областей (Маевский, 2014), при этом произрастание здесь остальных видов «ядра» подтверждается.

Заключение

Алгоритм фитосанитарного районирования включает несколько этапов. На первом этапе использование эколого-географического анализа позволяет научно обосновывать формирование видовых комплексов сорных растений, приуроченных к определенным территориям в масштабе регионов. Второй этап включает моделирование территорий, аналогичных по совокупности факторов тепло- и влагообеспеченности регионам, для которых научно обосновано произрастание комплекса видов сорных растений. Третий этап заключается в экстраполяции видового состава на смоделированные территории. Одновременно, это не исключает произрастание на смоделированных территориях также и других видов сорных растений, распространенных на территориях, не аналогичных вышерассмотренным областям Северо-Западного региона. Так, на территории Уральского региона и Сибири произрастают виды сорных растений юго-восточного происхождения, ареалы которых не достигают Северо-Западного региона,

но которые дополняют смоделированный комплекс сорных растений.

Результаты фитосанитарного районирования на макроуровне ложатся в основу разработки многолетнего прогноза формирования видового состава сорных растений регионов. Однако научно-обоснованное прогнозирование видового состава регионального комплекса сорных растений не обуславливает обязательного включения всех видов смоделированного комплекса в состав каждого агрофитоценоза. В пределах региона (области) распространенность видов сорных растений, как и распределение площадей возделывания сельскохозяйственных культур, регулируются почвенно-климатическими условиями агроклиматических районов. Реализация выявленного видового регионального комплекса сорных растений в агрофитоценозах обусловлена особенностями возделывания конкретных сельскохозяйственных культур: агротехническими и защитными мероприятиями.

Библиографический список (References)

- Александров ФА, Клиросова ВП, Красовский ЛИ, Новикова НГи др (1974) Определитель растений Кировской области Часть 1. Киров: Кировский ГПИ. 256 с.
- Александров ФА, Зубарева ЛА, Клиросова ВП, Красовский ЛИ и др (1975) Определитель растений Кировской области Часть 2. Киров: Кировский ГПИ. 304 с.
- Алехин ВВ, Кудряшов ЛВ, Говорухин ВС (1961) География растений с основами ботаники. М.: Учпедгиз. 532 с.
- Аспидова ЖВ (1996) Применение гербицидов на посевах сахарной и столовой свеклы в Ленинградской области. Автореф. дис. ... к.с.-х.н. Л.19 с.
- Афонин АН, Грин СЛ, Дзюбенко НИ, Фролов АН (ред.) (2008) Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. <http://www.agroatlas.ru> (11.04.2019)
- Баранова ЕВ, Добряков ПМ, Миняев НА, Орлова НИ и др (1970) Конспект флоры Псковской области. Миняев НА (ред) Л.: ЛГУ. 176 с.
- Беловашина НМ, Богачев ВК, Горохова ВВ, Дубровина АВ и др (1961) Определитель растений Ярославской области. Ярославль: Ярославский ГПИ. 497 с.
- Воробьев ЛП, Ворошилов ВН, Гураенков НН, Доронина ЮА и др (1974). Определитель высших растений Сахалина и Курильских островов Л.: Наука. 1–372
- Кравченко АВ (2007) Конспект флоры Карелии. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 403 с.

- Красноборов ИМ, Крапивкина ЭД, Ломоносова МН, Будникова ГП и др (2001) Определитель растений Кемеровской области. Новосибирск: СО РАН. 477.
- Лунева НН (2016) Особенности распространенности сорных растений в агроценозах агроклиматических районов Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 4(90):76–81
- Лунева НН (2017) Формирование видового состава сорных растений на примере посевов моркови в Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 2(92):36–40
- Лунева НН (2018) Сорные растения: происхождение и состав. *Вестник защиты растений* 1(95):26–32. [http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1\(95\)-26-32](http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1(95)-26-32)
- Лунева НН, Доронина АЮ, Ерошина ЮВ (2004) Видовой состав сорных растений в посевах моркови на территории Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 2:57–61
- Лунева НН, Мыслик ЕН (2015) Сорные растения в посевах озимой пшеницы Нечерноземной зоны России. *Образование, наука и производство* 3(12):37–40
- Лунева НН, Мыслик ЕН (2018) Современная ботаническая номенклатура видов сорных растений Российской Федерации. Гричанов ИЯ (ред). Санкт-Петербург: ВИЗР. Приложение к журналу «Вестник защиты растений» 26. 80 с.
- Лунева НН, Соколова ТД, Надточий ИН, Навицкене ГФ, Филиппова ЕВ (2007) Оценка засоренности посевов сельскохозяйственных культур в Новгородской области. *Вестник защиты растений* 3:34–45
- Лунева НН, Соколова ТД, Надточий ИН, Степанов ГГ (2009) Засоренность посевов в Псковской области. *Вестник защиты растений* 1:16–25
- Маевский ПФ (2014) Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Товарищество научных изданий КМК. 635 с.
- Миняев НА, Орлова НИ, Шмидт ВМ, Баранова ЕВ (1981) Определитель высших растений Северо-Запада Европейской части РСФСР. Л.: ЛГУ. 376 с.
- Миркин БМ, Наумова ЛГ, Хазиахметов РМ (2003) О роли биологического разнообразия в повышении адаптивности сельскохозяйственных экосистем. *Сельскохозяйственная биология* 5:83–92
- Мыслик ЕН, Лунева НН, Соколова ТД (2015) Видовое разнообразие сорных растений местообитаний разного типа на территории Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 1(83):54–57
- Нотов АА (2005) Материалы к флоре Тверской области. Ч. 1. Высшие растения. 4-я версия. Тверь: ТГУ. 156 с.
- Овеснов СА, Ефимик ЕГ, Козьминых ТВ, Баранова ОГ и др (2007) Иллюстрированный определитель растений Пермского края. Овеснов СА (ред). Пермь: Книжный Мир. 743 с.
- Орлова НИ (1997) Определитель высших растений Вологодской области. Вологда: ВГПУ, издательство «Русь». 264 с.
- Принципы адаптивно-агроэкологического макро-, мезо- и микрорайонирования территории. Агроархив. Сельскохозяйственные материалы. URL: <http://agro-archive.ru/adaptivnoe-rastenievodstvo/2443-principy-adaptivno-agroekologicheskogo-makro-mezo-i-mikroraionirovaniya-territorii.html> (15.06.2019)
- Ульянова ТН (1981) Сорнополевые растения Нечерноземной зоны РСФСР *Каталог мировой коллекции ВИР*. Коровина ОН (ред.) Л.: ВИР. (338):117
- Ульянова ТН (1988) Основные сорно-полевые растения сельскохозяйственных культур Ленинградской области *Каталог Мировой коллекции ВИР*. МГ Агаев (ред). Л.: ВИР. (468):113
- Ульянова ТН, Кондратенко ВИ, Иванов ИА, Малькова ЕА (1992) Сорные растения Новгородской, Вологодской и Архангельской областей. *Научно-технический бюллетень СПб.*: ВИР. (229):69–74
- Цвелев НН (2000) Определитель сосудистых растений Северо-Западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб.: СПХФА. 781 с.
- Черепанов СК (1995) Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). СПб.: Мир и семья. 992с.
- Шлякова ЕВ (1982) Определитель сорно-полевых растений Нечерноземной зоны. Л.: Колос. 208 с.

Translation of Russian References

- Alekhin VV, Kudryashov LV, Govoruhin VS (1961) [Geography of plants with the basics of botany]. Moscow: Uchpedgiz. 532 p. (In Russian)
- Aleksandrov FA, Klirosova VP, Krasovskiy LI, Novikova NG et al (1974) [The key to plants of the Kirov region Part 1]. Kirov: Gosudarstvennyy pedagogicheskiy institut. 256 p. (In Russian)
- Aleksandrov FA, Zubareva LA, Klirosova VP, Krasovskiy LI et al (1975) [The key to plants of the Kirov region Part 2]. Kirov: Gosudarstvennyy pedagogicheskiy institut. 304 p. (In Russian)
- Aspidova ZV (1966) [Application of herbicides on crops of sugar and table beet in the Leningrad region]. *Abstr. PhD Thesis*. Leningrad. 19 p. (In Russian)
- Afonin AN, Grin SL, Dzyubenko NI, Frolov AN (ed) (2008) [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds. <http://www.agroatlas.ru> (11.04.2019) (In Russian)
- Baranova EV, Dobryakov PM, Minyaev NA, Orlova NI et al (1971). [Synopsis of the flora of Pskov region]. Minyaev NA (ed) Leningrad: Leningradskiy gosudarstvennyy universitet. 176 p. (In Russian)
- Belovashina NM, Bogachev VK, Gorohova VV, Dubrovina AV et al (1961) [The key of plants of the Yaroslavl region]. Yaroslavl: Yaroslavskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy institut. 497 p. (In Russian)
- Cherepanov SK (1995) [Vascular plants of Russia and neighboring countries (within the former USSR)]. St. Petersburg: Mir i semya. 992 p (In Russian)
- Krasnoborov IM, Krapivkina ED, Lomonosova MN, Budnikova GP et al (2001) [The key of plants of the Kemerovo region]. Novosibirsk: Sibirskoe otdelenie rossiyskoy akademii nauk. 477 p. (In Russian)
- Kravchenko AV (2007) [Synopsis of the flora of Karelia]. Petrozavodsk: Karelskiy nauchnyy centr Rossiyskoy akademii nauk. 403 p. (In Russian)

- Luneva NN (2016a) [Features of the prevalence of weeds in agrocenoses of agro-climatic regions of the Leningrad region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4(90): 76–81. (In Russian)
- Luneva NN (2017) [Formation of species composition of weeds on the example of carrot crops in the Leningrad region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2(92):36–40 (In Russian)
- Luneva NN (2018) [Weeds: origin and composition]. *Vestnik zashchity rasteniy* 1(95):26–32 [http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1\(95\)-26-32](http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1(95)-26-32) (In Russian)
- Luneva NN, Doronina AY, Eroshina YV (2004) [Species composition of weeds in carrot crops in the Leningrad region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2:57–61 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2015) [Weeds in winter wheat crops in the non-Chernozem zone of Russia]. *Obrazovanie, nauka i proizvodstvo* 3(12):37–40 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2018) [Modern Botanical nomenclature of weed species of the Russian Federation]. Grichanov IA (ed) St. Petersburg: VIZR. 80 p. Appendix to the journal «Vestnik zashchity rasteniy», 26). <http://doi.org/10.5281/zenodo.1241599> (In Russian)
- Luneva NN, Sokolova TD, Nadtochiy IN, Navickene GF, Filippova EV (2007) [Assessment of contamination of crops in the Novgorod region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3:34–45 (In Russian)
- Luneva NN, Sokolova TD, Nadtochiy IN, Stepanov GG (2009) [Contamination of crops in the Pskov region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 1:16–25 (In Russian)
- Maevskiy PF (2014) [Flora of the middle zone of the European part of Russia. 11th ed.] Moskva: Tovarishchestvo nauchnyh izdaniy KMK. 635 c. (In Russian)
- Minyaev NA, Orlova NI, Shmidt VM, Baranova EV (1981) [The key of higher plants of the North-West of the European part of the RSFSR.] Leningrad: Leningradskiy gosudarstvennyy universitet. 376 p. (In Russian)
- Mirkin BM, Naumova LG, Haziakhmetov RM (2003) [On the role of biological diversity in increasing the adaptability of agricultural ecosystems.] *Selskokhozyaystvennaya biologiya* 5:83–92 (In Russian)
- Mysnik EN, Luneva NN, Sokolova TD (2015) [Species diversity of vascular plants of different habitats on the territory of the Leningrad region] *Vestnik zashchity rasteniy* 1(83):54–57 (In Russian)
- Notov AA (2005) [Materials for flora of Tver region. Part 1. Higher plant. Version 4.] Tver: Tverskoy gosudarstvennyy universitet. 156 p. (In Russian)
- Ovesnov SA, Efimik EG, Kozminykh TV, Baranova OG et al (2007) [The illustrated key of plants of Perm Krai.] Ovesnov SA (ed.) Perm: Knizhnyy Mir. 743 p. (In Russian)
- Orlova NI (1997) [The key of higher plants of the Vologda region.] Vologda: Vologodskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy universitet. 264 p. (In Russian)
- [Principles of adaptive agroecological macro-, meso- and micro-zoning of the territory. Agro archive. Agricultural materials]. <http://agro-archive.ru/adaptivnoe-rastenievodstvo/2443-principy-adaptivno-agroekologicheskogo-makro-mezo-i-mikrorayonirovaniya-territorii.html> (In Russian) (11.04.2019)
- Shlyakova EV (1982) [The key of weed-field plants of non-Chernozem zone] Leningrad: Kolos. 208 p. (In Russian)
- Tsvelev NN (2000) [The key of vascular plants of North-Western Russia (Leningrad, Pskov and Novgorod regions)]. St. Petersburg: Sankt-Peterburgskaya himiko-farmatsevticheskaya akademiya. 781 p. (In Russian)
- Ulyanova TN (1981) [Field-weed plants of non-Chernozem zone of the RSFSR] Korovina ON, ed *Katalog mirovoy kolleksii VIR*. L.: VIR. (338):117. (In Russian)
- Ulyanova TN (1988) [The main weed-field plants of agricultural crops of the Leningrad region] Agayev MG, ed *Katalog mirovoy kolleksii VIR*. L.: VIR. (468):113 (In Russian)
- Ulyanova TN Kondratenko VI, Ivanov IA, Malkova EA (1992) [Weed plants of the Novgorod, Vologda and Arkhangelsk regions.] *Nauchno-tekhnicheskii byulleten*. SPb: VIR. 229:69–74 (In Russian)
- Ulyanova TN, Luneva NN (1995) [The species composition of the main weeds of crops in the weed-field flora of the North-West of Russia]. *Sostoyanie i puti sovershenstvovaniya integrirovannoy zashchity posevov selskokhozyaystvennykh kultur ot sornoi rastitelnosti. Materialy Vserossiiskogo nauchno-proizvodstvennogo soveshchaniya*. [The State and ways of improving the integrated protection of crops from weeds. Proc. All-Russ. Sci. Prod. Meeting]. 12–15 (In Russian)
- Vorobyev LP, Voroshilov VN, Gurayenkov NN, Doronina YA et al (1974) [The key of higher plants of Sakhalin and the Kuril Islands. Leningrad: Nauka 1–372 (In Russian)

Plant Protection News, 2019, 2(100), p. 15–23

OECD+WoS: 4.01+AM

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-15-23](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-15-23)

Full-text article

PHYTOSANITARY ZONING OF WEEDS AT THE MACRO LEVEL: A CASE STUDY OF THE NORTH-WESTERN REGION OF RUSSIA

N.N. Luneva*¹, Y.A. Fedorova²

¹ All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

² St. Petersburg State University, Institute of Earth Sciences, St. Petersburg, Russia

* corresponding author, e-mail: natalja.luneva2010@yandex.ru

Weeds are the wild plant species that are the components of plant communities of secondary habitats. Weed species distribution is not regulated by a specific agricultural crop, but is rather governed primarily due to natural factors, the main of them are heat and moisture supply of the area. In this work we matched the heat and moisture factors limiting the distribution of each individual weed species in the north and the south with the indicators of heat and moisture supply of the North-Western economic region. Based on this, complex of weed species adapted to heat and moisture supply in this

area was revealed. The reliability of the species complex was verified by numerous data of authors' field studies in the North-Western region. The territories within Russian Federation similar in heat and moisture supply to the regions of the Northwestern economic zone were modeled using GIS. The presence of species of the revealed complex was confirmed and the absence of some of them in the modelled zones was explained using the data from scientific publications. The algorithm of phytosanitary zoning in relation to weed species on a regional level is presented useful for development of a long-term forecast of the weed species complex for specific territories.

Key words: weed species, range spreading, range prediction, mapping, plant protection

Received: 11.04.2019

Accepted: 30.05.2019

OECD+WoS: 4.01+AM

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-23-28](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-23-28)

Полнотекстовая статья

ПОРАЖАЕМОСТЬ ПЯТНИСТОСТЯМИ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ, ВКЛЮЧЕННЫХ В ГОСУДАРСТВЕННЫЙ РЕЕСТР СЕЛЕКЦИОННЫХ ДОСТИЖЕНИЙ И НАХОДЯЩИХСЯ НА СОРТОИСПЫТАНИЯХ В УСЛОВИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Н.М. Лашина*, О.С. Афанасенко

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: nlashina@mail.ru

Многолетний мониторинг болезней ячменя в Северо-Западном регионе РФ показал, что наиболее распространенными болезнями являются гельминтоспориозные пятнистости, вызываемые гембиотрофными патогенами: сетчатая (возбудитель – *Pyrenophora teres* f. *teres*) и темно-бурая (*Cochliobolus sativus*), а также ринхоспориоз (*Rhynchosporium commune*). В течение 5 лет (2014–2018 гг.) изучено поражение листовыми патогенами более 50 сортов ячменя, находившихся на госсортоиспытаниях в трех регионах Северо-Запада РФ – Ленинградской, Новгородской и Псковской областях. За период наблюдений 2014 и 2016 гг. были благоприятными для развития пятнистостей, развитие болезней на восприимчивых сортах достигало 90–100%. Это позволило достоверно оценить поражаемость сортов возбудителями сетчатой и темно-бурой пятнистостей. Показано, что большинство зарегистрированных в Госреестре сортов ячменя являются восприимчивыми к гельминтоспориозным пятнистостям. Сорта с относительной устойчивостью к одному виду патогена, восприимчивы к другому. Выделена группа сортов, отличающаяся устойчивостью к сетчатой пятнистости. Сорта, устойчивых к темно-бурой пятнистости, не обнаружено. За этот период в Северо-Западном регионе было районировано 5 сортов ярового ячменя: Зу Заза, КВС Аста, Олимпик, Саломе и Черио, которые характеризовались восприимчивостью к одному или двум видам пятнистостей.

Ключевые слова: болезни ячменя, сорта, устойчивость, Северо-Запад России, сетчатая пятнистость, темно-бурая пятнистость

Поступила в редакцию: 19.02.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Введение

Ячмень является одной из основных кормовых культур на Северо-Западе Российской Федерации. Восстановление и развитие животноводства, как приоритетного направления развития агропромышленного комплекса России, напрямую связано с расширением посевных площадей и увеличением урожайности данной культуры. Грибные болезни ячменя значительно снижают качество зерна, а кроме того, гембиотрофные патогены являются токсинообразующими грибами, что усиливает их вредность как при выращивании, так и при использовании

ячменя в пищевой, пивоваренной промышленности и в кормопроизводстве.

По нашим многолетним наблюдениям, основное распространение в условиях Северо-Западного региона РФ получили гельминтоспориозные пятнистости, вызываемые гембиотрофными патогенами: сетчатая (возбудитель – аскомицет *Pyrenophora teres* Drechs.) и темно-бурая (возбудитель – аскомицет *Cochliobolus sativus* (Ito et Kurib.) Drechsler ex Dastur.) пятнистости, а также ринхоспориоз (возбудитель – *Rhynchosporium commune*). Повсеместно

встречаются болезни, вызываемые облигатными паразитами, такими как пыльная головня (возбудитель – *Ustilago nuda* Kell. et Sw.) и мучнистая роса (возбудитель – *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Em. Marchal.). Эпифитотии пятнистостей ячменя возникают с частотой 1 раз в 3–4 года. Потери урожая восприимчивых сортов ячменя от этих болезней в годы эпифитотий составляют от 20 до 40% (Афанасенко и др., 2014).

В характеристиках представленных в Госреестре селекционных достижений сортов ячменя, допущенных к использованию на территории РФ, имеется признак устойчивости к гельминтоспориозным пятнистостям либо к гельминтоспориозу (ФГБУ «Госсорткомиссия» ..., 2019). Под определение «гельминтоспориозы» попадает и

Материалы и методы

Оценку поражаемости листовыми патогенами сортов ячменя, находящихся на сортоиспытаниях и допущенных к использованию на территории РФ, проводили на естественном инфекционном фоне на Государственных сортоиспытательных участках (ГСУ) в Ленинградской области (Гатчинский ГСУ и Волосовский ГСУ) в течение 5 лет (2014–2018 гг.), в Псковской области (Псковский ГСУ, ОПХ «РОДИНА») в течение 4-х лет и в Новгородской области (Батецкий ГСУ) в течение 3-х лет (табл. 1). Перечень сортов ячменя, проходивших оценку, указан в таблице 2. Среди них 24 сорта ячменя уже включены в Госреестр селекционных достижений и 27 сортов проходили сортоиспытания на допуск в Госреестр. Для оценки поражаемости болезнями сортов ячменя в качестве стандарта в Ленинградской области служили сорта Ленинградский, Суздалец и Криничный, в Новгородской области – Ленинградский, а в Псковской области – Ленинградский и Суздалец.

Оценку поражаемости сортов ячменя проводили на делянках размером 25 м² в 4-х кратной повторности. Растения оценивали в фазу молочной и молочно-восковой

гельминтоспориозная корневая гниль. В связи с этим, из данного определения невозможно получить информацию, каким возбудителем поражается тот или иной сорт. Такая ситуация, по-видимому, связана с трудностями визуальной диагностики различных видов пятнистостей ячменя. Поскольку генетическая детерминация устойчивости ячменя к сетчатой и темно-бурой гельминтоспориозным пятнистостям различна, очевидна необходимость характеристики поражаемости районированных и перспективных для районирования сортов ячменя к обоим возбудителям.

Целью данного исследования являлось определение поражаемости листовыми болезнями сортов ячменя, проходивших сортоиспытания на Госсортоучастках Северо-Запада РФ.

спелости зерна – на стадии 70–85 по международной шкале развития злаковых «ВВСН» (ВВСН шкала ..., 2015).

Диагностику болезней проводили по симптомам проявления на листьях и путем изучения морфолого-культуральных свойств возбудителей, выделенных в чистую культуру. Оценка степени пораженности растений ячменя различными патогенами проводили визуально по проценту пораженной поверхности на флаговом и предфлаговом листьях. Оценивали развитие болезни на 20 равноудаленных растениях одной делянки каждого сорта.

Таблица 1. Число сортов ячменя, проходивших оценку поражаемости листовыми патогенами

Области СЗРФ	ГСУ	Число сортов, проходивших оценку по годам				
		2014	2015	2016	2017	2018
Ленинградская	Волосовский	32	23	13	16	13
	Гатчинский	31	22	13	16	16
Новгородская	Батецкий	6	/	5	3	/
Псковская	ОПХ «Родина»	11	9	9	10	/

Результаты

За пятилетний период исследований 2014 и 2016 гг. отличались благоприятными условиями для развития листовых пятнистостей, как в Ленинградской области, так и в Псковской и Новгородской областях. Развитие сетчатой и темно-бурой пятнистостей на восприимчивых сортах в эти годы на сортоучастках Ленинградской области достигало 90–100%. В это же время в Псковской области максимальное развитие сетчатой пятнистости составило на восприимчивом сорте Таусень 70%, а развитие темно-бурой пятнистости не превышало 40%. В условиях Новгородской области развитие сетчатой пятнистости на сортах зафиксировано в пределах 30–40%, а развитие темно-бурой пятнистости достигало 50%.

В таблице 2 приведены средние значения развития болезней на сортах ячменя по областям Северо-Запада России. Так как по оценке на ГСУ Волосовский и Гатчинский (Ленинградская обл.) средние показатели по сортам, проходившим оценку, были сходны, в таблице 2 представлены объединенные данные по области.

За годы наблюдений поражение сорта-стандарта Ленинградский темно-бурой пятнистостью достигало 50%, развитие сетчатой пятнистости на нем не превышало

20%. Сорт-стандарт Криничный был поражен в очагах до 20% возбудителем как сетчатой, так и темно-бурой пятнистости. Сорт-стандарт Суздалец был поражен до 20% ринхоспориозом, до 90% – сетчатой пятнистостью и до 30–40% – темно-бурой пятнистостью.

Несмотря на то, что средние показатели развития болезней за период наблюдений на некоторых сортах ячменя не достигали значения порога вредоносности (20%), максимальные значения в эпифитотийные годы могли значительно превышать этот показатель, что, по-видимому, и отражает истинную поражаемость сорта (табл. 2). Также максимальное развитие болезней часто было зафиксировано в очагах непосредственно на делянках.

По результатам оценки в эпифитотийные 2014 и 2016 гг. выделилась группа сортов, сильно поражаемых сетчатой пятнистостью: Бенте, Инари, КВС 10-206, КВС Витара, Керстин, Олимпик, Рамблер, СА-715205, Саломе, Татум, Таусень, Фабиола, Чайна, Шафль и Яромир. Сильно поражаемыми темно-бурой пятнистостью оказались сорта Автограф, Апрель, Джейби Флейва КВС Аста, КВС Спектра, КВС Тесса, Мелиус и Черио.

Таблица 2. Поражаемость пятнистостями сортов ячменя, включенных в Госреестр селекционных достижений и находящихся на сортоиспытаниях в условиях Северо-Запада России

Сорт	Год включения в Госреестр селекционных достижений РФ	Число лет наблюдений в период 2014–2018 гг.	Развитие пятнистостей, %			
			сетчатой		темно-бурой	
			Среднее значение по годам	Максимальное проявление болезни	Среднее значение по годам	Максимальное проявление болезни
Ленинградская область						
Автограф	**	2	10	20	43	60
Апрель	**	1 ³	25	30	53	70
АС 07/768/5	**	2	10	40	13	30
Белгородский 110	**	2	15	20	13	20
Бенте	2018 *	2	24	50	20	70
Гезине	2016 *	2	13	60	21	40
Гонар	1994	1 ³	10	10	15	15
Даниэлле	**	2	10	10	15	30
Деспина	2012	5	15	50	18	60
Златояр	**	1	0	0	20	20
Зу Заза	2016	2	13	50	17	30
Зу Сурен	2016 *	2	10	10	27	60
Инари	1996	5	44	90	13	20
КВС 10-206	**	2	34	70	18	40
КВС Аста	2014	1 ³	5	5	50	80
КВС Вермонт	**	2	5	5	7	10
КВС Витара	**	2	39	70	13	20
КВС Спектра	**	2	21	40	35	60
КВС Тесса	**	1 ³	10	10	57	90
КВС Харрис	**	2	1	1	7	10
Керстин	**	2	27	50	12	30
Космополитен	**	2	3	5	13	20
St-Криничный	1987	5	12	20	9	20
St-Ленинградский	2009	5	8	20	31	80
Мелиус	2016 *	1 ³	5	5	50	60
Московский 86	2011	5	13	40	7	20
Норд 132523	**	2	14	30	11	20
Олимпик	2016	5	29	70	9	20
Рамблер	**	1 ³	50	90	18	20
Русалка	**	1	20	20	20	20
СА-715205	**	1 ³	90	100	10	10
Саломе	2016	5	34	90	14	40
Сангрия	**	1	5	5	5	5
St-Суздалец	1998	5	26	90	12	30
Татум	**	2	52	90	9	20
Фабиола	2016 *	1 ³	45	70	23	50
Фэст	**	2	4	5	7	10
Харбингер	**	1 ³	30	40	30	30
Чайна	**	1 ³	83	100	18	30
Черио	2014	5	25	50	38	90
Шафль	**	2	30	60	23	60
Эллинор	**	1	0	0	5	5
Эсма	**	2	1	1	5	10
Яромир	2013	1 ³	22	50	10	15
Новгородская область						
Владимир	2007	2	23	30	5	10
Котласский	**	1	1	1	8	10
St-Ленинградский	2009	2	5	5	35	50
Московский 86	2011	3	17	30	13	20
Таусень	2014 *	1 ³	30	30	3	3
Эльф	1997	2	13	20	15	15
Яромир	2013	3	28	40	12	15

Продолжение таблицы 2

Сорт	Год включения в Госреестр селекционных достижений РФ	Число лет наблюдений в период 2014–2018 гг.	Развитие пятнистостей, %			
			сетчатой		темно-бурой	
			Среднее значение по годам	Максимальное проявление болезни	Среднее значение по годам	Максимальное проявление болезни
Псковская область						
Владимир	2007	4	20	40	20	30
Гонар	1994	4	10	10	21	40
Джейби Флейва	2010	1 ^э	20	20	40	40
Зевс	2004	4	15	15	23	40
Изумруд	2013	4	20	20	17	30
Котласский	**	1	3	3	20	20
St-Ленинградский	2009	4	10	20	24	40
Московский 86	2011	4	13	20	22	30
St-Сузалец	1998	4	22	40	24	40
Таусень	2014 *	1 ^э	70	70	10	10
Эльф	1997	4	17	20	16	30
Яромир	2013	4	30	40	15	20

Условные обозначения: St – сорт-стандарт; * – сорт включен в Госреестр по другому региону; ** – сорт не включен в Госреестр; э – эпифитотийный год, 2 и более лет испытаний включали год эпифитотии, за исключением сортов: КВС Вермонт, КВС Харрис, Космополитен и Эсма.

Сорт Харбингер в эпифитотийный 2014 год проявил себя среднепоражаемым (развитие болезни 21–30%) к обоим видам пятнистостей, а сорт Апрель показал среднюю устойчивость только к возбудителю сетчатой пятнистости.

В группу устойчивых к сетчатой пятнистости сортов (развитие болезни до 5%) попали КВС Аста, Мелиус и Фэст. Группы сортов ячменя, устойчивых к темно-бурой пятнистости, не выделилось.

Слабо поражаемые сетчатой пятнистостью сорта, на которых среднее развитие болезни не превышало ЭПВ (20%), включали Автограф, Даниэлле, Зу Сурен, КВС Тесса и Изумруд. Слабо поражаемыми темно-бурой

пятнистостью оказались сорта Белгородский 110, Норд 132523, Татум, Фэст и Яромир.

Сильное развитие ринхоспориоза (до 80–90% в очаге) отмечено на сортах Зу Сурен, Мелиус и Апрель, развитие болезни составило до 50–60% на сортах Зу Заза, Деспина и Автограф.

Следует отметить, что некоторые сорта на Госсортоучастках не высевались повторно, поэтому оценка поражаемости листовыми патогенами проходила только один год. В таблице 2 указано, был ли год испытания сорта эпифитотийным.

Обсуждение

Ежегодные обследования, проводимые нами на производственных посевах зерновых культур, а также на Госсортоучастках Ленинградской, Новгородской и Псковской областей свидетельствуют, что большинство зарегистрированных в Госреестре сортов ячменя

являются восприимчивыми к гелиминтоспориозным пятнистостям. Следует отметить, что сорта с относительной устойчивостью к одному виду патогена восприимчивы к другому (рис.).

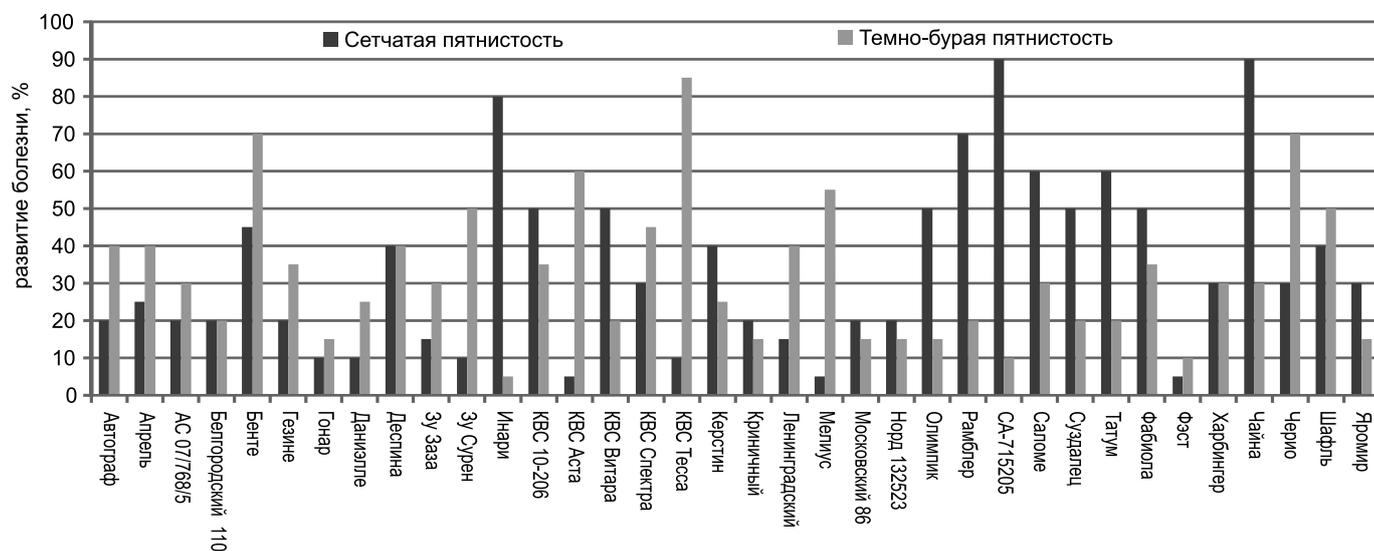


Рисунок. Поражаемость сортов ячменя пятнистостями в Ленинградской области в эпифитотийные 2014 и 2016 гг. (среднее значение за 2 года)

Устойчивый, по нашим данным, к двум видам пятнистостей сорт Фэст не был включен в Госреестр, тогда как сильно поражаемые сорта Олимпик и Саломе были районированы в 2016 г. Поскольку восприимчивые сорта оказались конкурентоспособными, можно предположить, что они отличаются толерантностью к болезням. Большим недостатком возделывания как восприимчивых, так и толерантных сортов является накопление инфекции и в семенах, и на растительных остатках. За период с 2014 по 2018 гг. в Северо-Западном регионе были районированы 5 сортов ярового ячменя: Зу Заза, КВС Аста, Олимпик, Саломе и Черю, которые характеризовались высокой восприимчивостью к одному или двум видам пятнистостей.

Таким образом, в Северо-Западном регионе основными вредоносными болезнями ячменя являются сетчатая и темно-бурая пятнистости. Впервые охарактеризован современный сортимент ячменя по устойчивости к различным видам пятнистостей, которые в Госреестре

селекционных достижений объединены под общим названием гельминтоспориозы. Возделываемые в регионе и испытываемые в последние 5 лет на Госсортоучастках сорта ячменя восприимчивы к сетчатой и темно-бурым пятнистостям листьев. По-видимому, при внесении в Госреестр селекционных достижений при равных показателях продуктивности следует отдавать предпочтение устойчивым и слабо поражаемым сортам, что может улучшить фитосанитарное состояние посевов и экологическую ситуацию, а также усилит мотивацию селекционеров на создание устойчивых сортов. В настоящее время имеются все предпосылки для создания таких сортов: известны доноры устойчивости, определена их эффективность в различных регионах, в том числе и на Северо-Западе РФ, разработаны молекулярные маркеры для «главных» генов устойчивости, создан исходный материал для селекции в виде дигаплоидных линий ячменя (Радюкевич и др., 2012; Афанасенко, 2013; Афанасенко и др., 2013; Лашина, 2015).

Библиографический список (References)

- Афанасенко ОС (2013) Современное состояние исследований генетики устойчивости ячменя к болезням. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 171:3–8
- Афанасенко ОС, Козьяков АВ, Хедлэй П, Лашина НМ и др. (2014) Картирование локусов, контролирующих устойчивость ячменя к *Pyrenophora teres f. teres* и *Cochliobolus sativus* в двух дигаплоидных популяциях. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 18(4/1):751–764
- ВВСН шкала развития злаковых. Фенологические фазы роста и обозначающие фенофазы коды ВВСН шкалы для зерновых (пшеница – *Triticum* sp. L., ячмень – *Hordeum vulgare* L., овес – *Avena sativa* L., рожь – *Secale cereale* L.). (2015) <https://fermer.ru/files/v2/forum/182746/vvsnshkalarazvitiyazernovyh.pdf> (14.02.2019)

- Лашина НМ (2015) Создание дигаплоидов ячменя как исходного материала для селекции сортов с групповой устойчивостью к болезням. *Автореф. дисс. к. б. н.* СПб. 23 с.
- Левитин ММ ред. (2013) Устойчивость ячменя к возбудителям пятнистостей листьев. СПб.: ВИЗР. 63 с.
- Радюкевич ТН, Анисимова АВ, Лашина НМ, Иванова НВ (2012) Селекционная оценка дигаплоидных линий ярового ячменя, созданных с использованием источников устойчивости к листовым пятнистостям. *Вестник защиты растений* 1(68):61–64
- ФГБУ «Госсорткомиссия». Сорта растений, включенные в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. (2019). URL: <https://reestr.gossort.com/reestr/l/27> (14.02.2019).

Translation of Russian References

- Afanasenko OS (2013) [Current status of researches on genetics of barley diseases resistance]. *Works on applied botany, genetics and plant breeding* 171:3–8 (In Russian)
- Afanasenko OS, Koziakov AV, Hedlay P, Lashina NM et al (2014) Mapping of the loci controlling the resistance to *Pyrenophora teres f. teres* and *Cochliobolus sativus* in two double haploid barley populations. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 18(4/1):751–764 (In Russian).
- BBCH scale of cereals development. Phenological phases of growth and BBCH scales denoting phenophases for cereals (wheat – *Triticum* sp. L., barley – *Hordeum vulgare* L., oats – *Avena sativa* L., rye – *Secale cereale* L.) (2015) <https://fermer.ru/files/v2/forum/182746/vvsnshkalarazvitiyazernovyh.pdf> (In Russian) (14.02.2019)
- Lashina NM (2015) *Sozdaniye digaploidov yachmenya kak iskhodnogo materiala dlya selektsii sortov s gruppovoy ustoychivostyu k boleznyam* [Development of double haploid

- barley lines as initial material for breeding cultivars with complex resistance to diseases]. *Abstr. PhD Biol. Thesis.* St. Petersburg. 23 p. (In Russian)
- Levitin MM, ed (2013) *Ustoychivost yachmenya k vzbuditelyam pyatnistosti listyev* [Resistance of barley leaf blights]. St. Petersburg: VIZR. 63 p. (In Russian)
- Radukevich TN, Anisimova AV, Lashina NM, Ivanova NV (2012) *Selektsionnaya otsenka digaploidnykh liniy yarovogo yachmenya, sozdannykh s ispolzovaniyem istochnikov ustoichivosti k listovym pyatnistostyam* [Assessment of breeding traits of spring barley double haploid lines, developed using the sources of resistance to leaf blights]. *Vestnik zashchity rasteniy* 1(68):61–64 (In Russian)
- FSBI «State Cultivars Commission». Plant cultivars, included to the State Register of Breeding Achievements Approved for Use (2019) URL: <https://reestr.gossort.com/reestr/l/27> (14.02.2019) (In Russian)

SUSCEPTIBILITY TO LEAF BLIGHTS OF COMMERCIAL BARLEY CULTIVARS IN NORTH-WESTERN REGION OF RUSSIA

N.M. Lashina*, O.S. Afanassenko

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author, e-mail: nlashina@mail.ru

The long-term monitoring of barley diseases in the North-Western Region of the Russian Federation revealed that the most common diseases are leaf blights, caused by hemibiotrophic pathogens, which are net blotch (causal agent – *Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*), as well as scald (*Rhynchosporium commune*). Over 5 years (2014–2018), susceptibility to leaf blights of more than 50 barley cultivars subjected to the state trials of the North-West of Russian Federation (Leningrad, Novgorod and Pskov regions) was studied. During the observation period, 2014 and 2016 were favorable for the development of barley blights and disease severity reached 90–100% on susceptible cultivars. This allowed for a reliable assessment of susceptibility of barley cultivars to the net and the spot blights. The majority of barley cultivars registered in the State Register of Breeding Achievements Approved for Use in North-Western Region of Russia was found susceptible to the leaf blights. Cultivars with moderate resistance to one disease were susceptible to another. A group of varieties distinguished by resistance to the net blotch was selected while no such group was found for varieties resistant to the spot blotch. As many as 5 cultivars of spring barley were zoned during this period: Zu Zaza, KWS Asta, Olimpik, Salome and Cherio. Each of them was characterized by susceptibility to one or both pathogens.

Key words: barley diseases, cultivars, resistance, Northwestern Russia, net blotch, spot blotch

Received: 19.02.2019

Accepted: 30.05.2019

МОНИТОРИНГ ВИРУЛЕНТНОСТИ И ФЕНОТИПИЧЕСКОГО СОСТАВА ПОПУЛЯЦИИ *Puccinia triticina* НА ЮЖНОМ УРАЛЕ В 2018 ГОДУ

Е.И. Гультаева^{1*}, Е.Р. Шрейдер², Е.Л. Шайдаюк¹, Н.П. Бондаренко²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

²Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
Челябинская обл., Чебаркульский район, п. Тимирязевский

*ответственный за переписку, e-mail: eigultyaeva@gmail.com

В 2018 г. продолжен многолетний мониторинг вирулентности *Puccinia triticina* на мягкой пшенице в условиях Южного Урала, проводимый нами с 2014 г. Впервые популяционные исследования дополнены использованием инфекционного материала, собранного на твердой пшенице. Всего изучено по 60 изолятов с каждого вида-хозяина. Все изоляты с твердой и мягкой пшеницы были авирулентными к линиям с генами *Lr19*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr44* и вирулентными к *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18*. Основные изменения челябинской популяции на мягкой пшенице, как и в предыдущие годы, затрагивали частоты вирулентности к *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr20* и *Lr26*. Среднее число аллелей вирулентности по отношению к 20 линиям-дифференциаторам в 2018 г. составило 13.5 и было самым низким за период 2014–2018 гг. Изученные изоляты с мягкой пшеницы были представлены семью фенотипами вирулентности. Согласно индексам генетических различий Нея (Nei D), Роджерса (R) и Fst челябинская популяция в 2018 г. характеризовалась умеренными различиями с 2017–2016 гг., и более высокими с 2014–2015 гг. Анализ инфекционного материала, собранного на твердой пшенице, выявил существенные различия в вирулентности патогена, по сравнению с мягкой пшеницей. Все изоляты с твердой пшеницы характеризовались меньшим числом аллелей вирулентности (10.5) и были авирулентны к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*. Субпопуляция *P. triticina* с твердой пшеницы имела более низкий полиморфизм

по вирулентности (TcLr20, TcLr26) и фенотипическому составу (три фенотипа), по сравнению с субпопуляцией на мягкой пшенице. В полевых условиях на фоне умеренного развития бурой ржавчины высокой степенью устойчивости характеризовались линии TcLr24, TcLr25, TcLr28, TcLr29, TcLr32, TcLr37 (пораженность 0%).

Ключевые слова: бурая ржавчина, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, структура популяций, Lr-гены

Поступила в редакцию: 31.01.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Яровая мягкая пшеница (*Triticum aestivum*) на Южном Урале является ведущей зерновой культурой, занимающей до 840 тыс. га (45 % в структуре посевных площадей области). Наряду с мягкой пшеницей в регионе выращивается яровая твердая пшеница. В 2018 г. площади, занятые под твердой пшеницей, составляли 120.5 тыс. га. Производство зерна на Южном Урале является неустойчивым, что обусловлено абиотическими и биотическими стрессами. Из абиотических стрессов в регионе преобладает засуха, а из биотических – сильное ежегодное поражение пшеницы бурой ржавчиной (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.), вредоносность которой может достигать 37% (Тюнин, Шрейдер, 2010).

Возбудитель бурой ржавчины пшеницы характеризуется высоким эволюционным потенциалом и достаточно быстро преодолевает генетическую устойчивость растений. Ежегодный анализ популяций патогена позволяет

оценить динамику их изменчивости, охарактеризовать эффективность генов устойчивости и выявить патотипы с новым спектром вирулентности.

Мониторинг вирулентности *P. triticina* на Южном Урале проводится нами с 2014 г. (Тюнин и др., 2017, 2018). В этих исследованиях оценивается динамика вирулентности и расового состава патогена на районированных и перспективных сортах пшеницы. Полученные сведения об изменчивости популяций патогена по вирулентности учитываются в региональных селекционных программах. Вирулентность патогена на твердой пшенице в условиях Южного Урала до настоящего времени не изучали.

Цель данных исследований – мониторинг вирулентности популяции возбудителя бурой ржавчины пшенице на Южном Урале в 2018 г. и характеристика ее многолетней динамики.

Материалы и методы

Листья с урединиопустулами были собраны на селекционном участке Челябинского НИИ сельского хозяйства (ЧНИИСХ) с районированных и перспективных сортов мягкой пшеницы Дуэт, Челябинская ранняя, Эритроспермум 59, Челябинка 2, Челябинка юбилейная, Россиянка, Уральская кукушка, Изумрудная, Нива 2, Искра, Челябинская степная и Саратовская 29. Многие из этих сортов пшеницы с 2014 г. ежегодно используются нами в анализе вирулентности в качестве инфекционного материала, что позволяет оценить динамику фенотипического состава патогена с минимизацией фактора селективного влияния растения-хозяина.

Инфекционный материал *P. triticina* на твердой пшенице был собран на поле экологического сортоиспытания сельскохозяйственных культур ФГУП «Троицкое» Челябинской области с сортов Безенчукская степная, Duganegro, Дамсинская юбилейная, Лавина, Харьковская 46 и Памяти Янченко.

Погодные условия в Уральском регионе в 2018 г. были недостаточно благоприятными для развития бурой ржавчины. Количество осадков во все месяцы вегетационного периода превосходило среднемноголетние значения. Сумма их равнялась 286 мм. Особенно влагообеспеченным традиционно был июль (170 % от нормы). При этом развитие пшеницы в мае – первой половине июня проходило при пониженной на 1.5–3 °С температуре воздуха, а в дальнейшем, вплоть до созревания, при повышенных на 3–5 °С градусов по сравнению со среднемноголетними показателями. Изученные образцы мягкой пшеницы имели степень поражения бурой ржавчиной от слабой (1–10 %) до высокой (50 %), а твердой от 1 до 3 %.

Образцы популяций с сухих листьев мягкой пшеницы были реанимированы на универсально восприимчивом сорте Thatcher. Для размножения инфекционного материала с твердой пшеницы использовали восприимчивый сорт твердой пшеницы Памяти Чеховича.

Для изучения внутривидовой структуры урединиообразцы со всех сортов-источников инфекционного материала были клонированы, и с каждого из них получено по пять монопустульных изолятов *P. triticina*. Получение монопустульных изолятов и размножение инфекционного материала проводили с использованием метода лабораторного культивирования гриба на отрезках листьев пшеницы (Михайлова и др., 1998).

Анализ вирулентности проводили на проростках пшеницы (фаза первого листа). Для этого по 2–3 зерна каждой TcLr-линии сеяли в почву. 10–14 дневные проростки инокулировали суспензией возбудителя и помещали в камеру искусственного климата (Versatile Environmental Test Chamber MLR-352H («SANYO Electric Co., Ltd.», Япония) при температуре 22 °С и влажности 75 %. Учет проводили на 10–12 день после заражения по шкале E.V. Mains и H.S. Jackson (McIntosh et al., 1995), где 0 – отсутствие симптомов; 0; – некрозы без пустул; 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом; 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом; 3 – пустулы среднего размера без некроза; 4 – крупные пустулы без некроза; X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы. Растения с типом реакции X относили к восприимчивым.

Для изучения структуры популяции по фенотипическому составу использовали 20 TcLr-линий. Определение фенотипов вирулентности проводили по североамериканской системе (Long, Kolmer, 1989). Для этого использованные TcLr-линии были объединены в 5 групп по четыре линии в каждой: 1 – Lr1, Lr2a, Lr2c, Lr3a; 2 – Lr9, Lr16, Lr24, Lr26; 3 – Lr3ka, Lr11, Lr17, Lr30; 4 – Lr2b, Lr3bg, Lr14a, Lr14b; 5 – Lr15, Lr18, Lr19, Lr20. Дополнительно в анализ вирулентности включили линии с генами Lr23, Lr28, Lr29, Lr44 и TcLr47, поскольку доноры некоторых из этих генов используются в селекции в ЧНИИСХ.

Определение буквенного кода фенотипов, вычисление индексов внутриволюционного и межпопуляционного разнообразия проводили с использованием пакета программ Virulence Analysis Tool (VAT) (Kosman, 2008). Внутриволюционное разнообразие челябинской популяции оценивали по индексам Нея (H_e) и Шеннона (Sh). Различия между образцами челябинской популяции в изученный период времени, а также между образцами популяции на

твердой и мягкой пшенице определяли по индексам Нея (Nei_D , Nei genetic distance), Рождерса (R) и Fst.

Многомерная диаграмма генетического родства между образцами челябинской популяции в 2014–2018 гг. построена в пакете программ GenAlEx (PCoA params) (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>) по индексу Нея ($Nei D$).

Результаты и обсуждение

Всего по признаку вирулентности охарактеризовано по 60 монопустьных изолятов, с мягкой и 60 изолятов с твердой пшеницы.

В результате анализа вирулентности образцов *P. triticina*, собранных с мягкой пшеницы в Челябинской области в 2018 г., высокой эффективностью, как и в предыдущие годы, характеризовались гены *Lr24*, *Lr28* и *Lr29* (табл. 1). Наряду с ними в текущем году не выявлено изолятов, вирулентных к линиям с генами *Lr19*, *Lr16* и *Lr44*. При этом, тип реакции изолятов на линиях с генами *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29* характеризовался как высокоустойчивый (балл 0–0), а на линиях с генами *Lr16* и *Lr44* как умеренно устойчивый (балл 2–2++). К группе неэффективных в фазе проростков относились гены *Lr1*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18* и *Lr30* (частоты вирулентности 77–100%). Основные изменения челябинской популяции на мягкой пшенице в 2018 г., как и в предыдущие годы, затрагивали частоты вирулентности к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr20* и *Lr26* (рис. 1). При этом частоты вирулентности к линиям *TcLr2a*, *TcLr15* и *TcLr20* в 2018 г. были существенно ниже по сравнению с предыдущими годами исследований (рис. 1).

Изоляты, вирулентные к *Lr9*, отмечены как на сортах пшеницы с этим геном (Дуэт, Челябинка 2, Челябинка юбилейная, Челябинка ранняя), так и на сортах без гена *Lr9* (Эритроспермум 59, Искра). В 2018 г. отмечается возрастание частот

вирулентности патогена к линии *TcLr9*, по сравнению с 2017 и 2016 гг. Это может быть обусловлено высокой представленностью в образцах инфекционного материала патогена с сортов, защищенных геном *Lr9*. Все изоляты, вирулентные к линии *TcLr9*, были авирулентными к линии *TcLr26*. Соответственно, сочетание генов *Lr9* и *Lr26* остается эффективным в защите пшеницы от бурой ржавчины в Уральском регионе. Это подтверждается результатами полевых исследований ЧНИИСХ, в которых сорт Силач и селекционные линии с генами *Lr9* и *Lr26* в полевых условиях не поражаются бурой ржавчиной.

Среднее число аллелей вирулентности по отношению к 20 линиям-дифференциаторам в челябинской популяции *P. triticina* в 2018 г. составило 13.5 и было самым низким за пятилетний период изучения (2017 г. – 14.9; 2016 г. – 14; 2015 г. 16.7; 2014 г. – 15.8).

В целом популяция *P. triticina* на мягкой пшенице в 2018 г. характеризовалась умеренным полиморфизмом по вирулентности (генным разнообразием). Значение индекса Нея (H_e) составило 0.14. В 2017 г. этот показатель составлял 0.22; в 2016 г. – 0.19; в 2015 г. 0.04; в 2014 г. 0.11.

Согласно индексу генетических расстояний ($Nei_Distance$) сходство челябинской популяции *P. triticina* по частотам вирулентности в 2018 г. было выше по сравнению с 2016–2017 гг., ($Nei_D=0.03$ и 0.08 соответственно), чем с 2014–2015 гг. (0.13 и 0.15).

Таблица 1. Частота изолятов, вирулентных к линиям Thatcher, в челябинской популяции *Puccinia triticina* на мягкой и твердой пшенице (2018 г.)

Сорт	Частота вирулентных изолятов к TcLr-линиям, %										
	<i>Lr2a</i>	<i>Lr2b</i>	<i>Lr2c</i>	<i>Lr9</i>	<i>Lr11</i>	<i>Lr15</i>	<i>Lr20</i>	<i>Lr23</i>	<i>Lr26</i>	*	**
Челябка ранняя	0	0	100	100	0	0	0	100	0	0	100
Эритроспермум 59	0	100	100	100	100	0	0	0	0	0	100
Челябка 2	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0	100
Дуэт	0	100	100	100	0	0	0	100	0	0	100
Уральская кукушка, Россиянка	100	100	100	0	100	100	0	0	100	0	100
Челябка степная	0	100	100	100	100	0	100	0	0	0	100
Изумрудная, Нива 2	100	100	100	0	100	100	100	0	100	0	100
Челябка юбилейная	0	100	100	100	100	0	0	0	0	0	100
Искра	0	100	100	100	100	0	0	100	0	0	100
Саратовская 29	0	100	100	0	0	0	0	0	100	0	100
Всего: мягкая пшеница	33	92	100	69	67	33	23	25	33	0	100
Безенчукская степная	0	0	0	0	100	0	100	100	0	0	100
Диганево	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Дамсинская юбилейная	0	0	0	0	100	0	100	100	0	0	100
Лавина	0	0	0	0	100	0	100	100	100	0	100
Харьковская 46	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Памяти Янченко	0	0	0	0	100	0	0	100	0	0	100
Всего: твердая пшеница	0	0	0	0	100	0	33	100	17	0	100

* линии с генами *Lr19*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr44*

** линии с генами *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18*

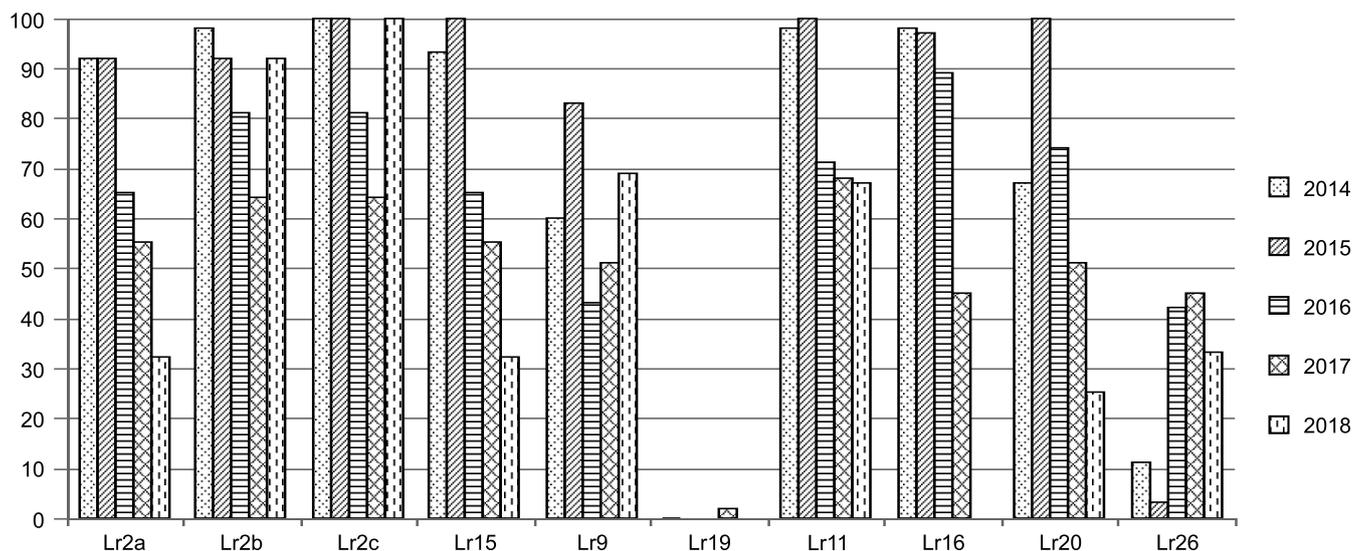


Рисунок 1. Динамика вирулентности в челябинской популяции *Puccinia triticina* (2014–2018 гг.)

В результате анализа фенотипического состава челябинской популяции с мягкой пшеницы выявлено семь фенотипов (PLTTG – 25%; PLPTG – 16.7%; TCTTR – 16.7%; TCTTQ – 16.7%; PCPTG – 8.3%; PLTTH – 8.3%; PLPKG – 8.3%). Индекс Шеннона указывал на ее умеренное разнообразие ($Sh=0.45$). Сходный уровень фенотипического разнообразия отмечен для челябинской популяции в 2014 и 2016 гг. (0.45). В 2015 г. он был существенно ниже (0.16), а в 2017 г. выше (0.68). Согласно индексу Роджерса (R) челябинская популяция в 2018 г. была ближе по сходству с популяциями 2016–2017 гг. (0.89 и 0.76), и отличалась от 2014–2015 гг. ($R=0.99$ и 1 соответственно).

Динамика фенотипического состава *P. triticina* на широко возделываемых сортах пшеницы (Дуэт, Челябин 2, Челябин юбилейная, Челябин ранняя, Эритроспермум 59, Россиянка, Нива 2), инфекционный материал с которых анализируется ежегодно, представлена в таблице 2. По сравнению с 2017 г. отмечено существенное изменение в составе фенотипов для большинства изученных образцов популяций, за исключением субпопуляций с сортов Россиянка (TCTTQ) и Нива 2 (TCTTR). Фенотипы TCTTQ и TCTTR характеризовались большим числом аллелей вирулентности, по сравнению с фенотипами группы P-, определенными на других сортах. Фенотип TCTTQ также отмечен на умеренно восприимчивом сорте Уральская кукушка, а фенотип TCTTR на сорте Изумрудная.

Многомерная диаграмма генетических расстояний между образцами челябинской популяции в 2014–2018 гг. по индексу F_{st} представлена на рисунке 2. В 2018 г. челябинская популяция *P. triticina* умеренно отличалась от популяций 2016 и 2017 гг., и в большей степени от популяций 2014 и 2015 гг. Результаты по индексу F_{st} согласуются с полученными по индексам Нея (Nei_D) и Роджерса (R). Согласно тесту Мантеля выявлена высокая корреляция результатов анализа популяций по трем статистическим индексам (Nei_D и R: $r=0.88$; Nei_D и F_{st} : $r=0.64$; R и F_{st} : $r=0.64$).

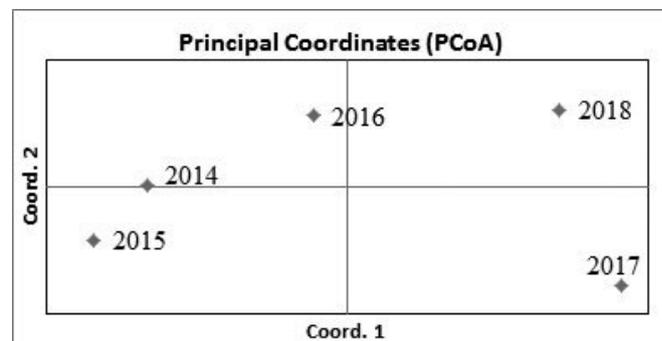


Рисунок 2. Многомерная диаграмма генетических расстояний между образцами челябинской популяции в 2014–2018 гг. (по индексу F_{st})

Таблица 2. Динамика фенотипического состава *Puccinia triticina* в Челябинской области на районированных сортах мягкой пшеницы

Сорт пшеницы	Фенотипы				
	2014	2015	2016	2017	2018
Дуэт	TQT ⁻ TQ TQT ⁻ R	TQT ⁻ R	PQT ⁻ TG	MQPKH	PLPTG
Челяба 2	TQT ⁻ TQ TQT ⁻ R	TLT ⁻ R TQT ⁻ R	TQP ⁻ R	MQPKG	PLPTG
Челяба юбилейная	TQT ⁻ R	TQT ⁻ R	TQT ⁻ R	MLTKG	PLTTG
Челяба ранняя	TQT ⁻ TL TQT ⁻ TQ	TQT ⁻ R	-	TQT ⁻ TQ	PLPKG
Эритроспермум 59	TGT ⁻ R FGT ⁻ JB TQT ⁻ SL TQT ⁻ TQ TQP ⁻ R PQT ⁻ KT	PGTKR TQT ⁻ R	TGT ⁻ R	MLTKH THT ⁻ R	PLTTG
Россиянка	-	-	THT ⁻ R	TCT ⁻ T ⁻ R	TCT ⁻ TQ
Нива 2	TGTTM KGTTL	-	-	TLT ⁻ R TCT ⁻ T ⁻ R	TCT ⁻ T ⁻ R

При анализе образцов популяций, собранных с твердой пшеницы, выявлены существенные их отличия от популяции с мягкой пшеницы. Все изоляты с твердой пшеницы характеризовались меньшим числом аллелей вирулентности (10.5) и были авирулентны к линиям с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr44* (табл.1). Как правило, тип реакции изолятов на линиях *TcLr2a* и *TcLr15* был несколько ниже (1–2), чем на линиях *TcLr2b* и *TcLr2c* (2–2++). Варьирование по вирулентности между изолятами с разных сортов отмечено только на линиях с генами *Lr20* и *Lr26*. Изученная коллекция изолятов с твердой пшеницы была представлена тремя фенотипами (МВТКГ – 50%; МСТКН – 27.3%; МВТКН – 22.7%). Данные фенотипы относятся к группе редких и, как правило, не встречаются в анализе популяций патогена с мягкой пшеницы.

Субпопуляция *P. triticina* на твердой пшенице характеризовалась меньшим генетическим ($H_s=0.04$) и фенотипическим ($Sh=0.27$) разнообразием, по сравнению с субпопуляцией на мягкой пшенице и существенно отличалась от нее согласно индексам генетических расстояний Нея ($Nei_D=0.15$) и Роджерса ($R=1$).

Исследования выполнены при поддержке гранта РФФИ №19-016-00052а.

Библиографический список (References)

- Михайлова ЛА, Гультяева ЕИ, Мироненко НВ (1998) Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы. Сборник методических рекомендаций по защите растений. СПб.: ВИЗР. 105–126
- Тюнин ВА, Шрейдер ЕР (2010) Особенности технологии селекции мягкой яровой пшеницы на устойчивость к углеводно-белковому истощению семян и другим стрессам в условиях Южного Урала. Челябинск. 119с.
- Тюнин ВА, Шрейдер ЕР, Гультяева ЕИ., Шайдаюк ЕЛ (2017) Характеристика вирулентности популяций *Puccinia triticina* и перспективы использования генов *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* в селекции яровой мягкой пшеницы на Южном Урале. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 21(5):523–529 <http://doi.org/10.18699/VJ17.269>
- Тюнин ВА, Шрейдер ЕР, Гультяева ЕИ, Шайдаюк ЕЛ (2018) Вирулентность возбудителя бурой ржавчины пшеницы на Южном Урале. *Вестник защиты растений*. 1(95):16–20 [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1\(95\)-16-20](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1(95)-16-20)
- Giraud T, Enjalbert J, Fournier E (2008) Population genetics of fungal disease of plant. *Parasite*. 15:449–454
- Kosman E, Dinooor A, Herrmann A, Schachtel GA, Kosman E (2008) Virulence Analysis Tool (VAT). User Manual.
- Long DL, Kolmer JA (1989) North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*. *Phytopathology*. 79:525–529 <http://doi.org/10.1094/Phyto-79-525>.
- McIntosh RA, Wellings CR, Park RF (1995) Wheat rusts. An atlas of resistance genes. CSIRO Australia, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, the Netherlands. 213 p.
- Nei M (1972) The genetic distance between populations. *American Naturalist* 106(949):283–291
- Rogers JS (1972) Measures of genetic similarity and genetic distance. Texas: University of Texas Publication. 145–53

Translation of Russian References

- Mikhailova LA, Gulyaeva EI, Mironenko NV (1998) [Methods for studying the structure of populations of the causative agent of brown rust of wheat]. *Sbornik metodicheskikh rekomendaciy po zashchite rasteniy*. St.-Petersburg: VIZR. 105–126 (In Russian)
- Tyunin VA Shreyder ER (2010) *Osobennosti tekhnologii seleksii yarovoy myagkoy pshenitsy na ustoychivost k uglevodno-belkovomu istoshcheniyu semyan i drugim stressam v usloviyakh Yuzhnogo Urala* [Features of the technology of selection of soft spring wheat for resistance to carbohydrate-protein depletion of seeds and other stresses in the conditions of the Southern Urals]. Chelyabinsk 119 p. (In Russian)
- Tyunin VA, Shreyder ER, Gulyaeva EI, Shaydayuk EL (2017) [Characteristics of virulence of *Puccinia triticina* populations and the potential of the *Lr24*, *Lr25*, *LrSp* genes for spring common wheat breeding in the Southern Ural]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii* 21(5):523–529 (In Russian) <http://doi.org/10.18699/VJ17.269>
- Tyunin VA, Shreyder ER, Gulyaeva EI, Shaydayuk EL (2018) [Virulence of leaf rust pathogen of wheat in South Ural]. *Vestnik zashchity rasteniy*. 1(95):16–20 (In Russian) [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1\(95\)-16-20](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-1(95)-16-20)

MONITORING OF VIRULENCE AND PHENOTYPES COMPOSITION OF *Puccinia triticina* POPULATION IN SOUTHERN URAL IN 2018

E.I. Gulyaeva^{1*}, E.R. Shreyder², E.L. Shaydayuk¹, N.P. Bondarenko²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

²Chelyabinsk Research Institute of Agriculture, Chelyabinsk region, Timiryazevskii, Russia

*corresponding author, e-mail: eigulyaeva@gmail.com

The long-term monitoring of *Puccinia triticina* virulence on common wheat from the Southern Urals, started in 2014, was continued in 2018. Population studies have been supplemented with the data on the infectious pathogen samples collected from the durum wheat. In total, sixty isolates from each host species were studied. All isolates from the common and durum wheat were avirulent to the lines with the *Lr19*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr44* genes and virulent to the lines with *Lr1*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18* genes. Similarly to the previous years, the main changes in the Chelyabinsk population on the common wheat included the frequencies of virulence to *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr9*, *Lr11*, *Lr15*, *Lr20* and *Lr26* genes. The average number of virulence alleles with respect to the 20 differentiator lines in 2018 was 13.5 and it was the lowest for the 2014–2018 period. The studied isolates from the common wheat were represented by seven virulence phenotypes. According to the indices of the genetic differences Nei (Nei D), Rogers (R) and Fst, the Chelyabinsk population in 2018 was characterized by moderate differences in comparison to 2017–2016, and higher differences in comparison to 2014–2015. Analysis of infectious populations samples collected from the durum wheat revealed significant differences among them and with pathogen samples from the common wheat. All isolates from the durum wheat were characterized by a reduced number of virulence alleles (10.5) and were avirulent to the lines with the *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15* genes. A subpopulation of *P. triticina* from the durum wheat had a lower virulence polymorphism (*TcLr20*, *TcLr26*) and phenotypic composition (three phenotypes), compared to the subpopulation from common wheat. Under the field conditions with moderate development of leaf rust, the lines *TcLr24*, *TcLr25*, *TcLr28*, *TcLr29*, *TcLr32*, and *TcLr37* (0% of infection) were characterized by a high level of resistance.

Key words: leaf rust, *Triticum aestivum* L., *Triticum durum* Desf., population structure, *Lr*-genes

Received: 31.01.2019

Accepted: 30.05.2019

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ПОВРЕЖДАЕМОСТЬ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ ЛИЧИНКАМИ ЖУКОВ-ЩЕЛКУНОВ В РАЗЛИЧНЫХ АГРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

С.Р. Фасулати*, О.В. Иванова

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: fasulatiser.spb@mail.ru

Рассмотрен ряд аспектов экологии и пищевой специализации личинок жуков-щелкунов (Coleoptera, Elateridae), известных как «проволочники», на примере щелкуна посевного полосатого *Agriotes lineatus* L. Показано, что сортовые особенности картофеля являются для личинок щелкунов одним из основных факторов детерминации их поведения при выборе источников пищи и доступной воды. Помимо этого, для личинок более привлекательны клубни, инфицированные фитопатогенами на ранних этапах патогенеза. Из экзогенных факторов среды на характер заселения посадок картофеля личинками щелкунов и на их миграционную активность наиболее существенно влияют растения-предшественники и режим увлажнения почвы в его сезонной динамике. Названные факторы следует учитывать при выборе условий, методов и критериев отбора сортов картофеля, слабо повреждаемых личинками щелкунов. В полевых условиях такой отбор возможен на опытном участке с равномерным естественным заселением вредителями и с использованием следующих основных критериев для каждого сорта: 1) процент поврежденных клубней; 2) общее количество входных отверстий («червоточин»); 3) среднее количество входных отверстий на 1 поврежденный клубень. Для лабораторной оценки сортов картофеля

следует использовать неинфицированные клубни. По данным ежегодного изучения в 2009–2018 гг. 20–40 сортов картофеля на опытных полях ВИЗР в г. Пушкине (СПб) и в Тосненском районе Ленинградской области сорта Наяда, Алый парус, Лига, Свитанок киевский обладают групповой устойчивостью к проволочникам и колорадскому жуку *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae), тогда как сорт Невский является одним из наиболее сильно повреждаемых обоими вредителями.

Ключевые слова: картофель, сорт, клубень, жуки-щелкуны, проволочники, поврежденность, почва, влажность

Поступила в редакцию: 27.03.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Введение

Картофель в основных зонах его возделывания серьезно повреждают, помимо наиболее опасных специализированных вредителей пасленовых культур (колорадский жук, картофельная моль, 28-пятнистая коровка-эпиляхна), также некоторые многоядные фитофаги. В первую очередь это проволочники – личинки жуков семейства щелкунов (Elateridae). Из них вредителями картофеля на Северо-Западе России и в Нечерноземье считаются 8 массовых видов, вредоносность которых в последние годы возрастает (Еланский, 2009; Волгарев, 2005; Система..., 2016).

Условия картофельных полей благоприятны для обитания личинок щелкунов, поскольку для них корм одновременно является незаменимым источником влаги для поддержания водного баланса ввиду неспособности добывать воду в капельном виде непосредственно из почвы. Заглатывать пищу они способны лишь в диспергированном состоянии (не крупными кусками) и потому питаются преимущественно нежными и сочными тканями растений, которые содержат много влаги и легко поддаются дисперсному измельчению. Таковы клубни картофеля, используемые личинками главным образом как источник доступной для усвоения воды; оптимальным же кормом для личинок большинства массовых видов щелкунов являются корни и корневища пырея ползучего *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski и других злаков (Черепанов, 1957; Бобинская и др., 1965; Волгарев, 2005).

Повреждения клубней личинками щелкунов значительно ухудшают их потребительские качества и способствуют проникновению в клубни из почвы бактериальной и грибной фитопатогенной инфекции, что особенно нежелательно при выращивании семенного картофеля. Инфицирование поврежденных клубней ведет также к возрастанию их потерь от загнивания при хранении. При скрытом образе жизни личинок применение против них инсектицидов и микробиопрепаратов затруднено и в основном ограничено обработкой семенных клубней и борозд перед посадкой (Волгарев, 2005; Система..., 2016). С учетом этого

в системах интегрированной защиты картофеля возрастает роль преимущественного возделывания устойчивых к вредным организмам сортов как экологической основы фитосанитарной стабилизации агробиоценозов (Павлюшин и др., 2013).

О пищевой избирательности проволочников в отношении клубней различных сортов картофеля, т.е. о проявлениях данными полифагами субгостальной пищевой специализации известно с середины XX века. Поиск и распознавание проволочниками источников пищи и воды включает дистантную (на расстоянии до 90 см) и контактную ориентацию и рецепцию по запаховым и вкусовым стимулам. С помощью хеморецепторов на антеннах, губных и челюстных щупиках личинки реагируют на соки растений, сахара, жиры и белки (Черепанов, 1957; Barsics et al., 2014, и др.), состав и содержание которых в органах различных видов и форм растений специфичны. Очевидно, что этим во многом обусловлены давно отмеченные различия степени повреждения проволочниками клубней разных сортов картофеля при наличии выбора, и соответственно – реальность выделения устойчивых к ним образцов (Бобинская и др., 1965; Kwon et al., 1999; Andrews et al., 2008; Giordanengo et al., 2013). Однако в качестве признака аттрактивности клубней картофеля для проволочников указывается только уровень содержания сахаров, а в качестве механизма устойчивости слабо повреждаемых ими форм – только общее содержание гликоалкалоидов (α -соланин, α -чаконин), и чаще всего в недопустимо высоких концентрациях для клубней сортов продовольственного назначения (Olsson, Jonasson, 1995; Suszkiw, 2011).

Задачи наших исследований включали изучение пищевого поведения проволочников с учетом сортовых различий картофеля и других агроэкологических факторов, а также совершенствование методов выявления слабо повреждаемых сортов из числа обладающих высокими потребительскими качествами и допущенных к возделыванию в России.

Материалы и методы

Исследования выполняли на базе лаборатории сельскохозяйственной энтомологии ВИЗР и филиала ВИЗР «Тосненская опытная станция защиты растений» с проведением полевых и лабораторных опытов. В них изучали в основном личинок щелкуна посевного полосатого *Agriotes lineatus* L. (Coleoptera, Elateridae) как наиболее многочисленного вида в окрестностях Санкт-Петербурга и в Тосненском районе Ленинградской области.

Пищевую ориентацию личинок изучали в осенний период общепринятыми методами экологии насекомых применительно к почвообитающим организмам (Кожанчиков, 1961, и др.). В качестве аналогов чашек Коха использовали

стеклянные цилиндры 350 x 100 мм и квадратные деревянные ящики того же размера, где размещали в слое торфогрунта типа «Садовая земля» клубни нескольких сортов картофеля нового урожая, раскладывая по кругу по 1–3 клубня каждого сорта с равными промежутками между сортами. После заполнения емкости торфогрунтом почти до верхнего края делали углубление в центре, куда высаживали 30–40 личинок III–IV возрастов щелкуна *A. lineatus*, предварительно собранных на полях ВИЗР и ТОСЗР. Через 6–8 дней после закладки опыта подсчитывали личинок, избравших клубни каждого сорта, учитывая особей на клубнях и в грунте соответствующего сектора сосуда

или ящика. Также подсчитывали количество поврежденных клубней и входных отверстий на каждом из них и анализировали характер локализации ходов.

Полевую оценку повреждаемости клубней разных сортов картофеля проводили путем ежегодной закладки деляночных опытов. На центральном опытном поле ВИЗР (г. Пушкин) высаживали весь изучаемый набор из 20–40 сортообразцов делянками по 24 куста каждого сорта (4 рядка по 6 кустов) и несколько широко возделываемых сортов из их числа – дополнительно укрупненными делянками по 70–120 кустов; клубни высаживали в борозды. На полях Тосненского филиала ВИЗР (с. Ушаки) с 2015 г. ежегодно высаживали от 3 до 10 широко возделываемых сортов картофеля более крупными делянками (по 200–300 кв. метров) способом механизированной посадки клубней в гребни.

Для анализа результатов во всех вариантах полевых опытов ежегодно при уборке урожая (сентябрь) отбирали пробы клубней каждого сорта, которые анализировали не по двум (Kwon et al., 1999), а по 3 биологическим показателям, предлагаемым в качестве критериев оценки степени повреждаемости сортов: 1) доля (%) клубней с повреждениями; 2) общее количество входных отверстий в пробе клубней; 3) среднее число входных отверстий на 1 поврежденный клубень без учета неповрежденных (Иванова,

Фасулати, 2016а). Отбор проб проводили с учетом размера опытных участков: из урожая с малых делянок поля ВИЗР (по 24 куста) для анализа поврежденности сорта брали 3–4 пробы по 10–15 клубней в каждой; с укрупненных делянок основных сортов – не менее 4 проб по 25–40 клубней. На более крупных участках поля Тосненского филиала ВИЗР пробы отбирали путем копки 3 кустов картофеля в 4–5 точках массива каждого сорта, дистанцированных одна от другой, и анализировали в каждой пробе все клубни, кроме самых мелких диаметром менее 20 мм.

В 2018 г. поврежденность клубней сорта Удача из урожая с поля ТОСЗР проанализирована также отдельно в 3 фракциях по величине клубней. С 2017 г. в полевых опытах при уборке урожая или при выборочной копке проб клубней каждого сорта учитывали количество живых личинок, обнаруженных на клубнях и в пахотном слое почвы вблизи кустов картофеля – в зоне гнезда клубней.

Данные проведенных опытов обрабатывали общепринятыми методами биометрии, а также способом «суммы рангов» по 3–4 критериям, включая названные выше, выбираемым применительно к изучаемым объектам и условиям проведения опытов согласно методикам ВИЗР по оценке устойчивости образцов растений к вредителям (Методические рекомендации..., 1980; Фасулати, Иванова, 2015, 2018; Иванова, Фасулати, 2016а, 2016б).

Результаты и обсуждение

Результаты наших многолетних исследований подтверждают приведенные выше данные литературы и, более того, указывают на ведущую роль сортовых особенностей картофеля среди факторов, определяющих выбор проволочниками источников пищи и воды.

Изучение локализации ходов личинок щелкуна посевного полосатого *A. lineatus* и щелкуна мраморного или пилоусого *Actenicerus sjaelandicus* Mull. (syn. *Corymbites sjaelandicus* Mull.) показало, что проволочники питаются преимущественно в ксилеме клубня, углубляясь обычно не более чем на 10–15 мм и почти не затрагивая сердцевину (Иванова, Фасулати, 2016а). Это закономерно, поскольку ткань сердцевины более твердая и менее насыщена влагой, чем ткань ксилемы. Отметим, что за все годы исследований мы не встречали личинок, внедрившихся в клубень на всю длину своего тела или более, а также сквозных ходов личинок через всю толщину клубня.

В любых условиях эксперимента при одновременном изучении не менее 6 сортов выделяются 3–5 градаций степени поврежденности сортов по совокупности не менее 3 биологических показателей. Об этом свидетельствуют данные полевого опыта 2015 г. с 21 сортом картофеля (Иванова, Фасулати, 2016а) и приведенные ниже новые примеры, поясняющие порядок ранжирования сортов по критериям поврежденности клубней в условиях полевого (табл. 1) и лабораторного опыта (табл. 2).

При экологическом подходе результаты оценки сортов картофеля на повреждаемость проволочниками, как и результаты их оценки на устойчивость к колорадскому жуку (Фасулати, Иванова, 2018), часто неоднозначны в методически однотипных опытах, но проведенных в различных агробиocenотических условиях. Тем не менее, из группы сортов картофеля, многократно оценивавшихся в 2009–2018 гг. в различных вариантах опытов, выделены

Таблица 1. Поврежденность личинками щелкунов клубней различных сортов картофеля на поле филиала ВИЗР «ТОСЗР» в 2017 г.

Сорта картофеля	Показатели поврежденности клубней *						Обнаружено личинок **		Индекс I – средний ранг	Градации степени поврежденности сортов
	1	2	3	Х	Ранг	Х	Ранг			
Рябинушка	30.0	1.5	6.3	1.5	1.4	2	4	2	1.75	Низкая: I < 2.57
Чародей	30.0	1.5	6.3	1.5	1.3	1	8	4.5	2.13	
Невский	36.7	4.5	8.5	3	1.5	3	3	1	2.83	Средняя (в пределах I ± 2/3 σ): 2.57 < I < 4.43
Аврора	35.0	3	10.8	5	1.9	6	5	3	4.25	
Елизавета	36.7	4.5	9.5	4	1.6	4	8	4.5	4.25	
Ломоносовский	45.0	6	11.5	6	1.7	5	14	6	5.75	Высокая: I > 4.43
Среднее ± s :	35.6 ± 2.07		8.8 ± 0.81		1.6 ± 0.08		7.0 ± 1.49		Для 6 сортов: I ± 2/3 σ = 3.50 ± 0.93	

* Показатели поврежденности клубней: 1 – процент поврежденных клубней; 2 – среднее количество входных отверстий в пробе из 15 клубней; 3 – среднее количество входных отверстий на 1 поврежденный клубень.

** Учитывались личинки на клубнях и в пахотном слое почвы при отборе проб клубней.

s – стандартная ошибка среднего.

Таблица 2. Сравнительное предпочтение личинками щелкунов клубней различных сортов картофеля в лабораторных опытах. ВИЗР, 2017 г.

Сорт картофеля	Средняя доля личинок, выбравших сорт*:		Среднее количество входных отверстий:				Средний ранг сорта – индекс I	Градации сортов по степени предпочтения клубней
	% ± s	Ранг	всего на 3 клубнях		на 1 поврежденный клубень			
			n ± s	Ранг	n	Ранг		
Ломоносовский	3.8 ± 2.13	2	1.7 ± 0.54	1	1.3	1	1.33	Непредпочитаемые I < 2.42
Аврора	6.7 ± 2.15	3	3.3 ± 0.98	2	2.0	2	2.33	
Рябиноушка	1.9 ± 0.76	1	6.3 ± 0.54	3	2.2	3	2.33	
Невский	18.2 ± 9.91	4	3.0 ± 0.82	4	2.7	4	4.00	Средне предпочитаемые (I ± 2/3σ)
Чародей	27.5 ± 15.8	5	10.0 ± 4.09	6	4.3	5	5.33	Предпочитаемые I > 4.58
Елизавета	36.1 ± 22.6	6	8.7 ± 4.65	5	5.2	6	5.67	
НСР (P < 0.05)	31.57		6.88		1.97		I ± 2/3σ = 3.50 ± 1.08	

* С учетом личинок, обнаруженных на клубнях и в почве соответствующего сектора сосуда.

s – стандартная ошибка среднего.

наиболее предпочитаемый проволочниками сорт Невский и слабо повреждаемые ими сорта Наяда, Алы парус (табл. 3, 4), Лига и Свитанок киевский с пониженной аттрактивностью клубней, которые обладают также устойчивостью к колорадскому жуку *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae) (Фасулати, Иванова, 2015). Это указывает на наличие у картофеля механизмов групповой устойчивости к насекомым-фитофагам, повреждающим любые вегетативные органы – как надземные, так и подземные.

В таблице 3 для обоих пунктов проведения полевых опытов 2009–2018 гг. приводится подробное описание условий, которые влияют на уровень численности проволочников и характер заселенности ими картофельных полей с учетом известных экологических адаптаций щелкунов и их личинок. Таковыми считаются относительная гигрофильность проволочников, их многолетняя генерация,

предпочтение ими тяжелых и кислых почв, способность в условиях избытка или дефицита влаги активно мигрировать в те или иные почвенные горизонты с более благоприятными условиями, пищевое предпочтение корневищных злаков и аттрактивность заросших ими участков полей для имаго при выборе мест откладки яиц (Черепанов, 1957; Бобинская и др., 1965; Giordanengo et al., 2013).

По нашим данным, на степень заселенности полей личинками щелкунов и на их пищевое поведение наиболее существенно влияют растения-предшественники на опытных участках и режим увлажнения почвы в его сезонной динамике с учетом способа посадки картофеля. Так, во всех случаях размещения посадок картофеля по пару (центральное поле ВИЗР) или по пласту многолетних трав (поле Тосненского филиала ВИЗР) численность вредителей и, соответственно, общая средняя доля поврежденных ими клубней были существенно выше, чем на тех же

Таблица 3. Влияние агроэкологических условий на степень поврежденности личинками щелкунов различных сортов картофеля в полевых опытах в ВИЗР и на ТОСЗР в 2009–2018 гг.

Условия проведения и основные показатели полевых опытов	Характеристики посадок картофеля и результаты опытов в пунктах их проведения									
1. Центральное опытное поле ВИЗР (г. Пушкин)										
2018 г.: А – малые делянки всех сортов по 24 куста; Б – укрупненные делянки 7 сортов										
Годы изучения	2009 г.		2011 г.		2015 г.		2018 г. – А		2018 г. – Б	
Количество изучавшихся сортов	39		30		21		21		7	
Тип и кислотность почвы	Супесчаная, pH 5.5 ... 5.8									
Предшественники	Пар		Картофель		Пар		Зерновые		Зерновые	
Способ посадки картофеля	Раскладка клубней в борозды после тракторной нарезки борозд									
Сумма осадков (мм) по месяцам *:	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII	VII	VIII
климатическая норма	66.0	69.4	66.0	69.4	66.0	69.4	66.0	69.4	66.0	69.4
текущий год	20.3	46.5	19.8	44.2	116.2	35.6	57.0	26.5	57.0	26.5
Влажность почвы в июле – августе	Пониженная		Пониженная		Оптимальная		Пониженная		Пониженная	
Удаление опытных делянок от лесов	>3 км от ближайших Александровского и Павловского пейзажных музейных парков									
Найдено личинок при копке проб клубней:	всего экз./средн.на 1 пробу				~ 0 / 0 (1 лич.)		0 / 0		~ 0 / 0 (1 лич.)	
Средний % поврежденных клубней ± s	29.8 ± 4.09		24.5 ± 4.00		20.21 ± 6.56		3.5 ± 0.66		2.8 ± 0.71	
Сопоставимые сорта и степень их поврежденности проволочниками по совокупности 3 биологических показателей относительно среднего значения по полевому опыту года:	Наяда		Чародей		Алы парус		Алы парус		Аврора	
	Елизавета		Невский		Лига		Елизавета		Наяда	
	Лига		Аврора		Наяда		Наяда		Чародей	
	Рябиноушка		Алы парус		Чародей		Рябиноушка		Ломоносовский	
Алы парус		Наяда		Рябиноушка		Аврора		Чародей		
Ниже средней		Аврора		Лига		Елизавета		Лига		
Средняя		Невский		Рябиноушка		Невский		Невский		
Выше средней		Чародей		Елизавета		Аврора		Удача		
								Невский		

Продолжение тоаблицы 3

Условия проведения и основные показатели полевых опытов	Характеристики посадок картофеля и результаты опытов в пунктах их проведения							
2. Поля Тосненского филиала ВИЗР (с. Ушаки)								
Годы изучения	2015 г.		2016 г.		2017 г.		2018 г.	
Количество изучавшихся сортов	10		8		6		3	
Тип и кислотность почвы	Суглинистая, pH 5.1 ... 5.4				Суглинистая, pH 4.6 ... 4.9			
Предшественники	Картофель		Картофель		Пласт многолетних трав			
Способ посадки картофеля	Механизированная посадка клубней в гребни тракторной картофелесажалкой							
Сумма осадков (мм) по месяцам *:	VII		VIII		VII		VIII	
климатическая норма	66.0		69.4		66.0		69.4	
текущий год	116.2		35.6		136.2		151.7	
Влажность почвы	Оптимальная		Избыточная		Избыточная		Пониженная	
Удаление опытных делянок от лесов	200 м		150 м		40–60 м		70–250 м	
Найдено личинок при копке проб клубней: всего экз. / в среднем на 1 пробу ± s					42 / 1.75 ± 0.37		15 / 0.88 ± 0.32	
Средний % поврежденных клубней ± s	13.8 ± 3.00		17.5 ± 2.10		35.6 ± 2.07		38.7 ± 8.15	
Сорта и степень их поврежденности проволочниками по совокупности трех биологических показателей относительно среднего значения полевому опыту года: (обозначения те же)	Наяда		Наяда		Чародей		Удача – опыт	
	Елизавета		Лига		Рябинушка		Удача – осн. массив	
	Чародей		Чародей		Невский		Невский	
	Ломоносовский		Елизавета		Елизавета			
	Лига		Ломоносовский		Аврора		Чародей	
	Аврора		Невский		Ломоносовский			

* В обеих частях таблицы – по данным агрометеостанции ВИР, г. Пушкин.

s – стандартная ошибка среднего.

Таблица 4. Градации степени устойчивости сортов картофеля к личинкам щелкунов по результатам многократной оценки в различных вариантах опытов 2009–2018 гг.

Сорт картофеля	Количество вариантов оценки сорта	Количество (n) и доля (%) одинаковых градаций степени поврежденности сорта в вариантах оценки:						Средний ранг сорта – индекс I	Градации сортов по степени повреждаемости (аттрактивности)
		Ниже средней		Средняя		Выше средней			
		n / %	Ранг	n	Ранг	n / %	Ранг		
А. Во всех вариантах опытов для 9 сортов, оценивавшихся не менее 4 раз:									
Наяда	7	5 / 71.4	1	2		0	1.5	2.50	Ниже средней: I < 3.98
Алый парус	4	2 / 50.0	2	2		0	1.5	2.83	
Рябинушка	6 *	2 * / 33.3	4.5	2		2 / 33.3	3	4.17	Средняя в пределах I ± 2/3 σ: 3.98 < I < 6.02
Елизавета	8 *	3 / 37.5	3	1	5 **	4 * / 50.0	7.5	5.17	
Чародей	10 *	3 / 30.0	6	3		4 * / 40.0	5	5.33	
Лига	6	2 / 33.3	4.5	1		3 / 50.0	7.5	5.67	
Аврора	8 *	2 * / 25.0	7	1		5 / 40.0	5	5.67	
Ломоносовский	5 *	1 * / 20.0	8	2		2 / 40.0	5	6.00	
Невский	9 *	1 / 11.1	9	3 *		5 / 55.6	9	7.67	Выше средней
Средневзвешенный индекс поврежденности для 9 сортов: I ± 2/3 σ = 5.00 ± 1.02									
Б. В 5 вариантах полевых опытов, общих для следующих 5 сортов картофеля:									
Наяда	5	3	1	2		0	1	1.67	Ниже средней
Лига	5	2	2.5	1		2	2.5	2.83	
Елизавета	5	2	2.5	0	3 **	3	4	3.17	Средняя: 2.43 < I < 3.57
Чародей	5	1	4	2		2	3.5	3.17	
Невский	5	0	5	1		4	5	4.33	
Средневзвешенный индекс поврежденности для 5 сортов: I ± 2/3 σ = 3.00 ± 0.57									

* Включая лабораторный опыт. ** По показателю доли средних результатов в независимых вариантах оценки всем сравниваемым сортам условно присвоен одинаковый ранг, равный средневзвешенному индексу I.

полях в годы высаживания картофеля по картофелю или после зерновых культур, т.е. на участках, значительно менее засоренных пыреем ползучим и другими видами корневищных злаков (табл. 3).

Названными факторами может быть обусловлена либо выраженная очаговость распространения проволочников в пределах опытного поля, что типично при их общей низкой численности (пример – поле ВИЗР, 2018 г.), либо различия плотности их популяции в разных участках поля в

связи с влиянием комплекса биотических и абиотических факторов, включая различия гидротермического режима почвы и предшествовавшего видового состава сорной растительности в пределах участка значительной площади (пример – поле ТОСЗР, 2018 г.). Это сказывается на результатах оценки сортов, размещенных на делянках в разных частях опытного участка; примеры – сорт Аврора на поле ВИЗР и сорт Удача на поле ТОСЗР в 2018 г. (табл. 3).

Условия увлажнения почвы также имеют существенное значение, однако они влияют прежде всего на поведенческие реакции и миграционную активность проволочников и должны рассматриваться в контексте сезонной динамики гидротермического режима. Так, на поле ТОСЗР при уборке урожая и отборе проб клубней 17–19 сентября 2018 г. отмечена диспропорция между высокой степенью поврежденности клубней – в среднем на уровне 2017 г., и более редкой встречаемостью живых личинок вблизи кустов картофеля – в 2 раза ниже уровня 2017 г. (табл. 3).

Таблица 5. Поврежденность личинками щелкунов различных фракций клубней картофеля сорта Удача на опытном поле Тосненского филиала ВИЗР, с. Ушаки. 2018 г.

Фракция клубней сорта Удача по признаку массы одного клубня	Выборка клубней, повт. / штук	Показатели поврежденности клубней проволочниками:		
		Доля поврежденных клубней, % ± s	Количество червоточин: всего в выборке клубней	в среднем на 1 поврежденный клубень ± s
Крупная – масса более 100 г	8 / 160	48.1 ± 3.18	204	2.7 ± 0.09
Средняя – масса 50–100 г	8 / 160	40.0 ± 1.25	123	1.9 ± 0.12
Мелкая – масса менее 50 г	8 / 160	27.5 ± 3.19	64	1.4 ± 0.14
Сумма или общее среднее	24 / 480	38.5 ± 2.33	391	2.0 ± 0.13
То же без разделения фракций:	8 / 195	39.0 ± 5.15	196	2.5 ± 0.24
НСР (P < 0.05)		6.95		0.39
НСР (P < 0.01)		8.93		0.50

s – стандартная ошибка среднего.

Вероятно, в засушливый период июля–августа 2018 г., когда шли завязывание и нарастание основной массы клубней, последние могли оказаться для проволочников почти единственным источником доступной воды при общем дефиците влаги. В таких условиях личинки активно повреждали молодые клубни с момента их завязывания, однако вскоре они в большинстве мигрировали в более увлажненные и благоприятные для них глубокие горизонты почвы во избежание губительного иссушения. В связи с этим закономерны как более редкая встречаемость личинок при уборке урожая в гребнях пахотного слоя почвы, чем в избыточно влажном 2017 г. (табл. 3), так и наибольшая степень поврежденности клубней крупной фракции (табл. 5) ввиду более ранних сроков их завязывания.

В то же время, несмотря на распространенную характеристику личинок щелкунов как гигрофильных насекомых, избыточная влажность почвы для них далеко не оптимальна, и в годы с суммой осадков в летние месяцы выше климатических норм для Северо-Западного региона она вызывает столь же активную миграцию личинок в наименее увлажненные почвенные слои. В таких условиях закономерна преимущественная локализация личинок в гребнях пахотного слоя почвы (при соответствующем способе посадки картофеля) вплоть до окончания уборки урожая клубней, что наблюдалось на полях ТОСЗР в 2017 г. (табл. 3).

Что касается других факторов среды, то тип и

Вероятной причиной отмеченного явления представляются различия гидротермического режима названных лет, обусловившие специфику миграционной активности личинок щелкунов в почвенных горизонтах и сроков преимущественного повреждения ими клубней картофеля как источников доступной воды. На это указывают результаты дифференцированного анализа поврежденности клубней сорта Удача из урожая 2018 г. с поля ТОСЗР, проведенного в трех фракциях по величине клубней (табл. 5).

кислотность почвы и удаленность посадок картофеля от лесных массивов, по нашим наблюдениям, в значительно меньшей степени определяют численность и характер распространения проволочников в посадках картофеля и не влияют напрямую на результаты оценки повреждаемости его сортов.

Варьирование показателей поврежденности проволочниками клубней тех или иных сортов картофеля наблюдается и в лабораторных условиях. Так, в опыте 2017 г. при статистически значимых различиях средних показателей поврежденности клубней отдельных сортов, что отмечено выше в таблице 3, имело место расхождение данных по трем повторностям, в которых наиболее предпочитаемыми сортами оказывались либо Невский, либо Чародей, либо Елизавета. Однако при анализе полученных результатов мы обратили внимание, что большинство избранных личинками клубней любого сорта имели признаки пораженности фитопатогенами (преимущественно фитотрофой) на ранних стадиях развития заболевания. Проведение уточняющего опыта с размещением в сосуде по кругу 3 пораженных и 3 непораженных клубней одного сорта Ломоносовский подтвердило значимость этого фактора в усилении аттрактивности клубней. Не исключено, что это связано с изменением органолептических свойств пораженного клубня за счет привнесенных собственных биополимеров, влияющих на пищевое поведение проволочников.

Выводы

Степень поврежденности клубней картофеля личинками жуков-щелкунов обусловлена сортовыми особенностями картофеля в сочетании с влиянием прежде всего таких факторов, как общий уровень численности личинок, гидротермический режим почвы и инфицированность клубней фитопатогенами на ранних этапах патогенеза. С учетом этих факторов полевой скрининг наименее

повреждаемых личинками сортов картофеля возможен на опытном участке с равномерным естественным заселением вредителями и с определением для каждого сорта 3 основных показателей поврежденности клубней, приведенных выше в главе «Материалы и методы» и в табл. 1. Для лабораторной оценки сортов картофеля следует использовать неинфицированные клубни.

Библиографический список (References)

- Бобинская СГ, Григорьева ТГ, Персин СА (1965) Проволочники и меры борьбы с ними. Л.: Колос. 223 с.
- Вилкова НА, Нefeldова ЛИ, Асякин БП, Конарев АлВ и др. (2009) Принципы и методы выявления источников групповой и комплексной устойчивости основных сельскохозяйственных культур к вредным организмам. СПб.: РАСХН, ВИЗР, ИЦЗР. 72 с.
- Волгарёв СА (2005) Эколого-токсикологическое обоснование использования новых инсектицидов против проволочников в агроценозе картофеля в Северо-Западном регионе РФ. Автореф. канд. дисс. СПб.: ВИЗР. 19 с.
- Еланский СН, ред. (2009) Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. М.: Картофелевод. 270 с.
- Иванова ОВ, Фасулати СР (2016а) Многоядные вредители пасленовых культур и устойчивость сортов картофеля к проволочникам. *Защита картофеля* (1):29–34
- Иванова ОВ, Фасулати СР (2016б) Принципы и методы отбора устойчивых к колорадскому жуку форм картофеля и овощных пасленовых культур. *Защита и карантин растений* (10):12–16
- Кожанчиков ИВ (1961) Методы исследования экологии насекомых. М.: Высшая школа. 286 с.
- Методические рекомендации по оценке устойчивости картофеля и кукурузы к главнейшим вредителям (1980) Ред. И.Д. Шапиро. Л.: ВИЗР. 138 с.
- Павлюшин ВА, Вилкова НА, Сухорученко ГИ, Нefeldова ЛИ, Фасулати СР (2013) Фитосанитарная дестабилизация агроэкосистем. СПб.: Родные просторы. 184 с.
- Система интегрированной защиты посадок репродукционного семенного картофеля от комплекса вредных организмов в Северо-Западном регионе Российской Федерации (2016). СПб.: ВИЗР. 64 с.
- Фасулати СР, Иванова ОВ (2015) Устойчивые сорта как основа интегрированной защиты картофеля от колорадского жука. *Защита картофеля* (2):32–35
- Фасулати СР, Иванова ОВ (2018) Изменчивость биологических показателей развития колорадского жука при оценке устойчивости пасленовых культур к вредителю в различных экологических условиях. *Вестник защиты растений* 3(97):43–48
- Черепанов АИ (1957) Жуки-щелкуны Западной Сибири. Новосибирск: АН СССР, Западно-Сибирский филиал. 382 с.
- Andrews N, Ambrosino M, Fisher G, Rondon SI (2008) Wireworm biology and nonchemical management in potatoes in the Pacific Northwest. *Publication PNW 607*, Oregon State University, Corvallis, OR. Barsics F, Haubruge É, Francis F, Verheggen FJ (2014) The role of olfaction in wireworms: a review on their foraging behavior and sensory apparatus. *Biotechnol Agron Soc Environ* 18(4):524–535
- Giordanengo Ph, Vincent Ch, Alyokhin A (Eds.) (2013) Insect Pests of Potato: Global Perspectives on Biology and Management. Amsterdam –...– Tokyo: Academic Press is an imprint of Elsevier. 598 p.
- Kwon M, Hahm YI, Shin KY, Ahn YJ (1999) Evaluation of various potato cultivars for resistance to wireworms (Coleoptera: Elateridae). *Amer J Potato Res* 76(5):317–319
- Olsson K, Jonasson T (1995) Genotypic differences in susceptibility to wireworm attack in potato: mechanisms and implications for plant breeding. *Plant Breeding* 114:66–69
- Suszkiw J (2011) New potatoes withstand destructive wireworms. *Agricult Res* 59:22

Translation of Russian References

- Bobinskaya SG, Grigorjeva TG, Persin SA (1965) [The wireworms and the fight measurements against them]. L.: Kolos. 223 p. (In Russian)
- Vilkova NA, Nefeldova LI, Asyakin BP, Konarev AIV et al. (2009) [The principles and methods of revealing of the sources of group and complex resistance of the main agricultural crops to the pest organisms]. SPb.: RASHN, VIZR, ICZR. 72 s. (In Russian)
- Volgarjov SA (2005) [The ecologotoxical substantiation of using of new insecticides against the wireworms in potato agrocenosis in the Northern-Western Region of the Russian Federation]. *Abstr PhD Thesis*. SPb.: VIZR. 19 s. (In Russian)
- Yelanskiy SN, ed. (2009) [The protection of Potato from diseases, pests and herbs]. M.: Kartofelevod. 270 s. (In Russian)
- Ivanova OV, Fasulati SR (2016a) [The polyphagous pests of solanaceous crops and the resistance of potato varieties to wireworms]. *Zashchita kartofelya* (1):29–34 (In Russian)
- Ivanova OV, Fasulati SR (2016b) [The principles and methods of screening of the potato and of the vegetable solanaceous crops varieties resistant to the Colorado potato beetle]. *Zashchita i karantin rasteniy* (10):12–16 (In Russian)
- Kozhanchikov IV (1961) [The research methods of insect ecology]. M.: Vysshaya shkola. 286 s. (In Russian)
- Shapiro ID, ed (1980) Methodical recommendations for the evaluation of the potato and the maize resistance to the main pests (1980) Leningrad: VIZR. 138 p. (In Russian)
- Pavlyushin VA, Vilkova NA, Sukhoruchenko GI, Nefeldova LI, Fasulati SR (2013) [The phytosanitary destabilization of agroecosystems]. SPb.: Rodnyye prostory. 184 s. (In Russian)
- The system of integrated protection of plantations of the reproductive seed potato from the complex of pest organisms in the Northern-Western Region of Russian Federation (2016) St. Petersburg: VIZR. 64 p. (In Russian)
- Fasulati SR, Ivanova OV (2015) [The resistant varieties as a basis of the integrated potato protection from the Colorado potato beetle]. *Zashchita kartofelya* (2):32–35. (In Russian)
- Fasulati SR, Ivanova OV (2018) [The variability of the biological parameters of developing of the Colorado potato beetle in evaluation of the Solanaceous cultivars for the pest resistance in different ecological conditions]. *Vestnik zatschity rasteniy* 3(97):43–48 (In Russian)
- Cherepanov AI (1957) [The Click beetles of the Western Siberia]. Novosibirsk: AN SSSR, Zapadno-Sibirskiy filial. 382 p. (In Russian)

THE COMPARATIVE STUDY OF THE POTATO VARIETIES DAMAGE BY THE CLICK BEETLES LARVAE IN DIFFERENT AGROECOLOGICAL CONDITIONS

S.R. Fasulati*, O.V. Ivanova

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author; e-mail: fasulatiser.spb@mail.ru

Some ecology and feeding specialization features of click beetles larvae known as the “wireworms”, with larvae of the field click beetle *Agriotes lineatus* L. (Coleoptera, Elateridae) as a model object, have been studied. It has been shown that the potato variety peculiarities are among the major factors determining the behavior of wireworms in the food foraging and searching for available water sources. Moreover, the tubers infected by phytopathogens at the early stages of pathogenesis, are more attractive for the wireworms. Among the exogenous natural factors, the plants-precursors and the soil humidity regime in its seasonal dynamics have the most significant influence on the ways of potato plantations colonization by click beetles larvae and on the migrating activity of this species. These factors should be considered for choosing the conditions, methods and the selection criteria for the potato varieties least-damaged by wireworms. In the field conditions, such selection is possible on the experimental plot with the uniform natural colonization by the pests with high or medium density of their population, using the following main criteria for the each variety: 1) a percent of damaged tubers; 2) a total number of tunnels (“worm-holes”); 3) a mean number of tunnels per 1 damaged tuber. For the laboratory evaluation of potato varieties, the non-infected tubers only are suitable. According to the data of annual research of 20–40 potato varieties in 2009–2018 on the experimental fields of VIZR in Pushkin (SPb.) and in Tosno District of the Leningrad Region, the Nayada, Alyi Parus, Liga and Svitanok kievskiy varieties have the group resistance to the wireworms and to the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera, Chrysomelidae), whereas the Nevsky variety is among the most intensively damaged by both pests.

Key words: potato, variety, tuber, pest, click beetles larvae, wireworms, worm-hole, damaging, soil, humidity

Received: 27.03.2019

Accepted: 30.05.2019

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕРБИЦИДОВ В ПОСЕВАХ КУКУРУЗЫ В СТАВРОПОЛЬСКОМ КРАЕ

С.В. Кузнецова, В.Н. Багринцева*, Е.И. Губа

Всероссийский научно-исследовательский институт кукурузы, Пятигорск

* ответственный за переписку; e-mail: maize-techno@mail.ru

Изучена эффективность применения на кукурузе смеси гербицидов Дублон Супер, ВДГ и Эгида, СК в сравнении с гербицидом Кордус Плюс, ВДГ. Опыт был заложен по схеме: 1 – контроль без гербицидов; 2 – Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида (0.2 л/га) + Аллор (0.2 л/га); 3 – Кордус Плюс (0.44 кг/га) + Тренд (0.2 л/га). Полевые испытания проводились в 2017–2018 годах в условиях зоны достаточного увлажнения Ставропольского края на гибридах разных групп спелости: Уральский 150; Байкал; Машук 250 СВ; Машук 355 МВ. В среднем за два года через 21 день после внесения гербицидов биологическая эффективность баковой смеси Дублон Супер + Эгида составила 79.6%, гербицида Кордус Плюс – 85.8%. Масса сорняков уменьшилась на 98.0 и 97.8% соответственно. Перед уборкой кукурузы наиболее чистыми от сорных растений были делянки, где вносили смесь Дублон Супер + Эгида. Число сорняков в этом варианте уменьшилось на 90.9%, масса – на 99.0%. Биологическая эффективность гербицида Кордус Плюс перед уборкой кукурузы была меньше и составила 88.6%, при уменьшении массы сорняков на 98.9%. Применение гербицидов, за счет снижения засоренности посевов кукурузы, позволило существенно повысить урожайность зерна выращиваемых гибридов, смесь Дублон Супер + Эгида обеспечила прибавки урожая от 32.9 до 41.1%, гербицид Кордус Плюс – от 28.0 до 40.1%. По изменению численности сорных растений, их

массы и прибавкам урожая зерна, в виду несущественных различий, эффективность баковой смеси гербицидов Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида, (0.2 л/га) и гербицида Кордус Плюс (0.44 кг/га) была равнозначной.

Ключевые слова: кукуруза, гербициды, сорные растения, биологическая эффективность, урожайность

Поступила в редакцию: 25.02.2019

Принята к печати: 30.05.2019

Кукуруза является одной из важнейших сельскохозяйственных зерновых культур в мире. Высокая урожайность и широкий спектр ее использования делают кукурузу уникальной и ценной культурой.

Одним из факторов, сдерживающих получение высоких и стабильных урожаев зерна кукурузы, является засоренность посевов (Mousavi, 2001). Применение гербицидов позволяет эффективно подавлять сорные растения в агрофитоценозе, защищая формирующийся урожай (Багринцева и др., 2011, Salarzai, 2001, Owen, Zelaya, 2005). Несмотря на высокие темпы развития современной химической промышленности в области производства гербицидов, на сегодняшний день сорные растения остаются серьезной проблемой в растениеводстве. Ассортимент гербицидов, предлагаемый производителями, достаточно широк. Однако эффективность их применения в каждом конкретном случае засоренности зависит от сочетания действующих веществ, входящих в состав гербицида (Кузнецова и др., 2011). Комбинация действующих веществ обеспечивает более высокую эффективность применения гербицидов (Bijan-zadeh, Ghadiri, 2006). Для успешной борьбы с сорняками в посевах кукурузы целесообразно применение препаратов, имеющих в своем составе вещества с различными механизмами действия, направленными на уничтожение определенных наиболее вредоносных видов сорных растений, а также использование баковых смесей разных гербицидов.

Кукуруза, как сельскохозяйственная культура, не имеет специализированных сорняков, их видовой состав зависит от почвенно-климатической зоны возделывания. В зоне достаточного увлажнения Ставропольского края наиболее распространенным и вредоносным для кукурузы сорняком является амброзия полыннолистная (Багринцева, Кузнецова, 2010). Этот однолетний злостный карантинный сорняк с высоким коэффициентом семенного размножения способен полностью подавить растения кукурузы и снизить урожайность зерна в 2–4 раза (Алтухова и др., 2005). Амброзия при применении малоэффективных гербицидов способна возобновлять вегетацию и наносить существенный вред кукурузе. Изучение численности растений амброзии полыннолистной в зерно-пропашном севообороте показало, что даже при применении гербицидов на предшествующих культурах засоренность кукурузы этим сорняком остается высокой (Кузнецова, Багринцева, 2015).

В Ставропольском крае в посевах кукурузы часто наблюдается высокая засоренность трудноискоренимыми сорняками: осотом полевым *Sonchus arvensis* L., бодяком

полевым *Cirsium arvense* (L.) Scop., вьюнком полевым *Convolvulus arvensis* L. дурнишником обыкновенным *Xanthium strumarium* L.

Цель нашей работы – сравнительная оценка эффективности баковой смеси гербицидов ЗАО Фирмы «Август» Дублон Супер, ВДГ + Эгида, СК и гербицида ООО «Дюпон Наука и технологии» Кордус Плюс, ВДГ в условиях зоны достаточного увлажнения Ставропольского края.

В состав гербицида Дублон Супер, ВДГ входят никосульфурон (125 г/кг) и дикамба (425 г/кг). Действующее вещество гербицида Эгида, СК – мезотрион (480 г/кг). Гербицид Кордус Плюс, ВДГ состоит из трех действующих веществ: римсульфурана (23 г/кг), никосульфурона (92 г/кг) и дикамбы (550 г/кг).

Никосульфурон уничтожает однолетние и многолетние злаковые, а также некоторые однолетние двудольные сорные растения. Слабую чувствительность к никосульфурону проявляют амброзия полыннолистная, дурнишник обыкновенный. Римсульфурон уничтожает однолетние и многолетние злаковые и некоторые однолетние двудольные сорные растения (разновидности щирицы). Амброзия полыннолистная проявляет к римсульфурону среднюю чувствительность, дурнишник обыкновенный устойчив к его применению. Дикамба применяется для уничтожения однолетних и некоторых многолетних двудольных сорняков, включая виды осота. Мезотрион уничтожает однолетние и некоторые многолетние двудольные сорные растения. Среди чувствительных к препарату растений амброзия полыннолистная, дурнишник обыкновенный. Подавляет вьюнок полевой в начальных фазах развития.

Гербицид Кордус Плюс, ВДГ рекомендуется применять в смеси с 0.2 л/га ПАВ Тренд 90, Ж. Дублон Супер, ВДГ рекомендуется применять с добавлением 0.2 л/га ПАВ Адьо, Ж (этоксилат изодецилового спирта). Фирма «Август» предлагает для гербицида Дублон Супер, ВДГ в качестве ПАВ применять новое многофункциональное поверхностно-активное вещество Аллюр, Ж, представляющее собой уникальную комбинацию липофильного пенетранта и высокоэффективного смачивателя. Фирма «Август» считает, что Аллюр, Ж (0.2 л/га), как ПАВ более эффективен по сравнению с Адьо, Ж (0.2 л/га).

В связи с недостаточно высокой эффективностью гербицида Дублон Супер против амброзии в условиях Ставропольского края, Фирма «Август» предлагает применять баковую смесь с Эгидой с добавлением ПАВ Аллюр. Изучение эффективности баковой смеси Дублон Супер, Эгида и Аллюр нами проведено впервые.

Материалы и методы

Материалом для написания статьи послужили результаты полевых испытаний гербицидов на кукурузе, проведенных в 2017–2018 гг. на опытном поле ФГБНУ ВНИИ кукурузы. Опытное поле расположено на расстоянии 3 км от п. Пятигорский Предгорного района Ставропольского края, на высоте 541 м над уровнем моря, 44° с.ш., 43° в.д.

Почва опытного поля – чернозем обыкновенный карбонатный малогумусный мощный тяжелосуглинистый. Содержание гумуса – 4.7%, подвижного фосфора – 12–15 мг/кг, обменного калия – 280–300 мг/кг.

Опытное поле расположено в зоне достаточного увлажнения Ставропольского края. Средне многолетнее количество осадков за период вегетации кукурузы (май–сентябрь)

составляет 394 мм. Погодные условия в годы исследований различались. В 2017 г. в начале вегетационного периода (в мае) условия увлажнения были благоприятными для развития кукурузы, осадков выпало в 2.7 раза больше среднего многолетнего. В дальнейшем наблюдался дефицит влаги, с июня по сентябрь осадков выпало на 46% меньше среднего многолетнего. За период вегетации кукурузы (май-сентябрь) выпало осадков 368 мм. В 2018 г. весь вегетационный период был засушливым, за май-сентябрь осадков выпало 284 мм, что в 1.4 раза меньше среднего многолетнего количества.

Объектами исследований являлись гербициды. Опыт был заложен по схеме: 1 – контроль без гербицидов; 2 – Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида (0.2 л/га) + Аллор (0.2 л/га); 3 – Кордус Плюс (0.44 кг/га) + Тренд (0.2 л/га).

Эффективность гербицидов изучали на гибридах кукурузы селекции ВНИИ кукурузы: раннеспелых Уральский 150 и Байкал, среднераннем Машук 250 СВ и среднеспелом Машук 355 МВ. Посев проводили сеялкой СУПН – 8. Предшественником в опыте была пшеница, агротехника – общепринятая для возделывания кукурузы. Опыт

Результаты

До внесения гербицидов степень засоренности опытных делянок сорняками была высокой. Сорные растения находились на ранних стадиях развития. Общая численность сорняков в среднем за годы исследований достигала 93.3 шт/м², в том числе двудольных насчитывалось 63.0 шт/м², однодольных – 30.3 шт/м².

Класс двудольные представляли: амброзия полыннолистная *Ambrosia artemisiifolia* L. (проективное покрытие опытных делянок 43.6%), бодяк полевой *Cirsium arvense* L. (1.8%), вероника полевая *Veronica arvensis* L. (6.3%), вьюнок полевой *Convolvulus arvensis* L. (5.3%), горец вьюнковый *Polygonum convolvulis* L. (0.2%), дрема ночная *Silene noctiflora* L. (0.2%), дурнишник обыкновенный *Xanthium strumarium* L. (0.2%), лебеда татарская *Atriplex tatarica* L. (2.6%), марь белая *Chenopodium album* L. (0.6%), осот огородный *Sonchus oleraceus* L. (0.3%), осот полевой *Sonchus arvensis* L. (3.5%), подмаренник цепкий *Galium aparine* L. (0.4%), щирица запрокинутая *Amarantus retroflexus* L. (1.0%), яснотка стеблеобъемлющая *Lamium amplexicaule* L. (1.3%). Сорный компонент класса однодольные был представлен в основном щетинником сизым *Setaria glauca* L. (31.1%) и видами проса *Panicum* (1.4% от общего числа сорняков).

На следующий день после внесения гербицидов при визуальном осмотре опытных делянок в обоих вариантах было отмечено пожелтение и увядание верхних листьев у амброзии полыннолистной и разновидностей осота, полегание растений лебеды татарской и вьюнка полевого. У однодольных сорных растений не наблюдалось реакции на гербициды.

Через неделю после обработки посева гербицидами провели повторную визуальную оценку состояния сорных растений. На опытных делянках с применением смеси Дублон Супер + Эгида наблюдалось закручивание верхних листьев и очаговый некроз тканей у амброзии полыннолистной. На листьях дурнишника обыкновенного и щетинника сизого было отмечено осветление окраски. Кордус Плюс по сравнению со смесью Дублон Супер +

закладывали в соответствии с «Методическими рекомендациями по проведению полевых опытов с кукурузой» (Филев и др., 1980). Общая площадь делянки 250 м². Делянки заложены в четырехкратном повторении. Гербициды вносили в фазе 5 листьев кукурузы опрыскивателем ОП-2000. Расход рабочей жидкости составил 250 л/га.

В течение вегетации кукурузы после внесения препаратов вели визуальные наблюдения за состоянием сорняков и растений кукурузы. Оценка фитосанитарного состояния опытного поля проводили по методике Велецкого И.Н. (1989). Учет засоренности проводили количественно-весовым методом до внесения гербицидов, через 21 день после внесения и перед уборкой урожая.

Учет урожая в фазе полной спелости зерна проводили с площади 9.8 м² в четырех повторениях. Уборку початков проводили вручную с последующим обмолотом на молотилке, урожай пересчитывали на 14% влажность. Статистическую обработку урожайных данных по каждому гибриду кукурузы проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (Доспехов, 1979).

Эгида вызвал гибель большей части сорных растений, у сохранившихся растений щетинника сизого листья приобрели антоциановую окраску.

В оба года исследований фитотоксичности гербицидов на растениях разных гибридов кукурузы не отмечено.

Анализ средних данных за два года исследований показал, что через 21 день после внесения гербицидов число двудольных сорных растений в обоих вариантах было одинаковым (табл. 1). Снижение численности двудольных сорняков относительно контроля составило 89.1%. В варианте с баковой смесью сорная масса уменьшилась на 99.2%, в варианте с Кордус Плюс – на 98.9%. Применение баковой смеси Дублон Супер + Эгида позволило избавиться от таких сорняков, как бодяк полевой, вьюнок полевой, лебеда татарская, щирица запрокинутая и разновидностей осота. В варианте с внесением Кордус Плюс погибли горец вьюнковый, лебеда татарская и осот полевой и огородный.

Однодольные сорняки проявили большую чувствительность к компонентам гербицида Кордус Плюс, растений щетинника сизого было меньше по сравнению с смесью Дублон Супер + Эгида в 1.6 раза.

В вариантах с внесением гербицидов погибла большая часть растений сорного ценоза. Биологическая эффективность баковой смеси Дублон Супер + Эгида составила 79.6%, гербицида Кордус Плюс – 85.8%. Масса сорняков стала меньше на 98.0 и 97.8% соответственно.

Таким образом, через 21 день после химической прополки кукурузы некоторое преимущество было у гербицида Кордус Плюс. Однако, судя по НСР, различия между изучаемыми вариантами применения гербицидов по общему числу сохранившихся сорных растений и их массе являются несущественными.

Перед уборкой кукурузы самыми чистыми от сорных растений были делянки, где вносили смесь Дублон Супер + Эгида (табл. 2). Число сорняков в этом варианте в среднем за два года уменьшилось на 90.9%, масса – на 99.0%. Биологическая эффективность гербицида Кордус Плюс

перед уборкой кукурузы была меньше и составила 88.6%, при уменьшении массы сорняков на 98.9%.

В контрольном варианте без применения гербицидов масса сорняков перед уборкой кукурузы была равна 1046.7 г/м². Амброзия полыннолистная образовала фитомассу, равную 716.2 г/м², что от общей массы сорной растительности составило 68.4%. С помощью гербицидов удалось снизить численность сорняка на 94.4–95.5%, массу – на 99.8%.

На втором месте по числу и массе с одного квадратного метра перед уборкой кукурузы был щетинник сизый. Наименьшее число растений этого сорняка отмечено в

варианте опыта с применением гербицидов Дублон Супер и Эгида.

К уборке кукурузы в обоих вариантах опыта полностью были уничтожены такие сорные растения, как бодяк полевой, дурнишник обыкновенный, осот огородный, яснотка стеблеобъемлющая.

К концу вегетации кукурузы наименьшее общее число сорных растений выявлено в варианте опыта с применением смеси Дублон Супер + Эгида. Но, судя по НСР, различия между вариантами Дублон Супер + Эгида и Кордус Плюс несущественны.

Таблица 1. Численность и масса сорных растений в посеве гибридов кукурузы через 21 день после внесения гербицидов в среднем за 2017–2018 гг.

Наименование сорного растения	Контроль без гербицидов		Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида (0.2 л/га) + Аллюр (0.2 л/га)		Кордус Плюс (0.44 кг/га) + Тренд (0.2 л/га)	
	число, шт/м ²	масса, г/м ²	число, шт/м ²	масса, г/м ²	число, шт/м ²	масса, г/м ²
Двудольные	16.5	171.5	1.8	1.4	1.8	1.9
Амброзия полыннолистная <i>Ambrosia artemisiifolia</i>	8.8	77.7	1.2	1.0	1.0	1.1
Бодяк полевой <i>Cirsium arvense</i>	2.9	59.9	0.0	0.0	0.1	0.1
Вероника полевая <i>Veronica arvensis</i>	0.8	1.1	0.0	0.0	0.1	0.1
Вьюнок полевой <i>Convolvulus arvensis</i>	1.3	6.3	0.2	0.2	0.3	0.3
Горец вьюнковый <i>Polygonum convolvulis</i>	0.2	6.6	0.2	0.1	0.0	0.0
Лебеда татарская <i>Atriplex tatarica</i>	0.7	2.9	0.0	0.0	0.0	0.0
Осот огородный <i>Sonchus oleraceus</i>	0.4	1.7	0.0	0.0	0.0	0.0
Осот полевой <i>Sonchus arvensis</i>	0.3	0.8	0.0	0.0	0.0	0.0
Щирица запрокинутая <i>Amarantus retroflexus</i>	0.6	13.7	0.0	0.0	0.1	0.1
Яснотка стеблеобъемлющая <i>Lamium amplexicaule</i>	0.5	0.8	0.2	0.1	0.2	0.2
Однодольные	9.5	43.4	3.5	2.8	1.9	2.8
Просо волосовидное <i>Panicum capillare</i>	0.6	19.2	0.4	1.1	0.0	0.0
Щетинник сизый <i>Setaria glauca</i>	8.9	24.2	3.1	1.7	1.9	2.8
Всего	26.0	214.9	5.3	4.2	3.7	4.7
НСР _{0.05} , шт/м ²			16.0*			
НСР _{0.05} , г/м ²			83.6**			

Примечание: * – НСР для числа сорняков всего; ** – НСР для массы сорняков всего.

Таблица 2. Численность и масса сорных растений в посеве гибридов кукурузы перед уборкой в среднем за 2017–2018 гг.

Наименование сорного растения	Контроль без гербицидов		Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида (0.2 л/га) + Аллюр (0.2 л/га)		Кордус Плюс (0.44 кг/га) + Тренд (0.2 л/га)	
	число, шт/м ²	масса, г/м ²	число, шт/м ²	масса, г/м ²	число, шт/м ²	масса, г/м ²
Двудольные	20.0	909.1	1.1	2.2	1.5	3.3
Амброзия полыннолистная <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	9.0	716.2	0.5	1.5	0.4	1.6
Бодяк полевой <i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	5.9	59.6	0.0	0.0	0.0	0.0
Вероника полевая <i>Veronica arvensis</i> L.	0.2	1.0	0.0	0.0	0.3	0.5
Вьюнок полевой <i>Convolvulus arvensis</i> L.	1.8	13.9	0.2	0.2	0.2	0.5
Дурнишник обыкновенный <i>Xanthium strumarium</i> L.	0.2	1.8	0.0	0.0	0.0	0.0
Лебеда татарская <i>Atriplex tatarica</i> L.	1.3	49.3	0.2	0.1	0.2	0.2
Осот огородный <i>Sonchus oleraceus</i> L.	0.3	13.4	0.0	0.0	0.0	0.0
Щирица запрокинутая <i>Amarantus retroflexus</i> L.	0.9	52.7	0.2	0.4	0.4	0.5
Яснотка стеблеобъемлющая <i>Lamium amplexicaule</i> L.	0.4	1.2	0.0	0.0	0.0	0.0
Однодольные	10.7	137.6	1.7	7.5	2.3	8.5
Просо волосовидное <i>Panicum capillare</i> L.	0.5	18.3	0.3	0.5	0.4	0.5
Просо куриное <i>Echinochloa crus galli</i> (L.) Beauv.	0.2	3.9	0.3	0.5	0.3	0.6
Щетинник сизый <i>Setaria glauca</i> L.	10.0	115.4	1.1	6.5	1.6	7.4
Всего	30.7	1046.7	2.8	9.7	3.5	11.8
НСР _{0.05} , шт/м ²			9.4*			
НСР _{0.05} , г/м ²			140.8**			

Примечание: * – НСР для числа сорняков всего; ** – НСР для массы сорняков всего.

Таблица 3. Урожайность зерна гибридов кукурузы при применении гербицидов в среднем за 2017–2018 гг.

Наименование гибрида	Контроль без гербицидов, т/га	Дублон Супер (0.4 кг/га) + Эгида (0.2 л/га) + Аллюр (0.2 л/га)			Кордус Плюс (0.44 кг/га) + Тренд (0.2 л/га)			НСР _{0.05} , т/га
		т/га	прибавка т/га	%	т/га	прибавка т/га	%	
Уральский 150	3.04	4.04	1.00	32.9	3.89	0.85	28.0	0.41
Байкал	2.97	4.10	1.13	38.1	4.16	1.19	40.1	0.51
Машук 250 СВ	3.99	5.33	1.34	33.6	4.93	0.94	23.6	0.45
Машук 355 МВ	5.31	7.49	2.18	41.1	7.44	2.13	40.1	0.68

Применение гербицидов, снижая засоренность посевов кукурузы, позволило существенно повысить урожайность зерна выращиваемых гибридов (табл. 3).

В варианте с применением смеси Дублон Супер + Эгида на среднеспелом гибриде Машук 355 МВ получена максимальная прибавка урожая зерна, которая составила

41.1%. Гербицид Кордус Плюс обеспечил наибольшую равнозначную прибавку (40.1%) у раннеспелого гибрида Байкал и среднеспелого Машук 355 МВ. Следует отметить, что между вариантами с гербицидами по прибавкам урожая зерна гибридов кукурузы не было существенных различий.

Обсуждение

В результате проведенных исследований установлено, что в условиях зоны достаточного увлажнения Ставропольского края применение гербицидов значительно снизило засоренность посева кукурузы. Через 21 день после химической обработки кукурузы биологическая эффективность баковой смеси Дублон Супер, ВДГ (0.4 кг/га) + Эгида, СК (0.2 л/га) и ПАВ Аллюр, Ж (0.2 л/га) составила 79.6%, гербицида Кордус Плюс, ВДГ (0.44 кг/га) с ПАВ Тренд 90, Ж (0.2 л/га) – 85.8%. Масса сорняков стала меньше соответственно на 98.0 и 97.8%. К уборке кукурузы самыми чистыми от сорных растений были делянки с внесением смеси Дублон Супер, ВДГ (0.4 кг/га) + Эгида, СК (0.2 л/га) + Аллюр, Ж (0.2 л/га). Число сорняков в этом варианте в среднем за два года уменьшилось на 90.9%, масса – на 99.0%.

Биологическая эффективность гербицида Кордус Плюс, ВДГ (0.44 кг/га) с ПАВ Тренд 90, Ж (0.2 л/га) к концу вегетации кукурузы составила 88.6%, при уменьшении

общей массы сорняков на 98.9%. По изменению численности сорных растений и их массы, в виду несущественных различий, эффективность баковой смеси гербицидов Дублон Супер, ВДГ (0.4 кг/га) + Эгида, СК (0.2 л/га) была равнозначна гербициду Кордус Плюс, ВДГ (0.44 кг/га).

Применение гербицидов позволило получить существенное повышение урожайности зерна гибридов кукурузы разных групп спелости. В вариантах с внесением баковой смеси гербицидов Дублон Супер, ВДГ (0.4 кг/га) + Эгида, СК (0.2 л/га) + Аллюр, Ж (0.2 л/га) и Кордус Плюс, ВДГ (0.44 кг/га) с ПАВ Тренд 90, Ж (0.2 л/га) прибавки урожая зерна существенно не различались.

Таким образом, полученные опытные данные позволяют рекомендовать баковую смесь Дублон Супер, ВДГ (0.4 кг/га) + Эгида, СК (0.2 л/га) с ПАВ Аллюр, Ж (0.2 л/га) наравне с гербицидом Кордус Плюс, ВДГ (0.44 кг/га) с ПАВ Тренд 90, Ж (0.2 л/га) для защиты посевов кукурузы от сорняков.

Библиографический список (References)

- Алтухова ТВ, Костюк АВ, Спиридонов ЮЯ, Шестаков ВГ, Гиневский НК (2005) Как защитить кукурузу от амброзии полыннолистной. *Защита и карантин растений* 7:38–39
- Багринцева ВН, Кузнецова СВ (2010) Динамика изменения сорного ценоза в посевах самоопыленной линии кукурузы. *Зерновое хозяйство России* 6(12):51–54
- Багринцева ВН, Кузнецова СВ (2011) Комплексная оценка гербицидов для кукурузы. *Зерновое хозяйство России* 1(13):31–34
- Велецкий ИН (1989) Технология применения гербицидов. 2-е изд. Перераб. и доп. Л.: Агропромиздат, Ленинградское отделение. 176 с.
- Доспехов БА (1979) Методика полевого опыта. М.: Колос. 416 с.
- Кузнецова СВ, Багринцева ВН, Губа ЕИ (2011) Эффективность применения гербицидов на кукурузе. *Кукуруза и сорго* 1:24–27
- Кузнецова СВ, Багринцева ВН (2015) Сорные растения в посевах кукурузы. *Земледелие* 6:44–45.
- Филев ДС, Циков ВС, Золотов ВИ, Логачев НИ (1980) Методические рекомендации по проведению полевых опытов с кукурузой. Днепропетровск, ВНИИ кукурузы ВАСХНИЛ. 54 с.
- Bijanazadeh E, Ghadiri H (2006) Effect of separate and combined treatments of herbicides on weed control and maize (*Zea mays* L.) yield. *Weed Technol* 645 p.
- Mousavi MR (2001) Integrated Weed Management: Principles and Methods. *J Prod Agric* 759–762.
- Owen MDK, Zelaya IA (2005) Herbicide resistant crops and weed resistance to herbicides. *Pest Manag Sci* 61:301–311.
- Salarzai M. (2001). Effect of different herbicides on weed population and yield of maize (*Zea mays* L.) *Pak J Agric Sci* 38:75–77.
- Williams M.M. (2006). Planting date influences critical period of weed control in sweet maize (*Zea mays saccharata*). *Weed Sci* 54:928–933

Translation of Russian References

- Altukhova TV, Kostyuk AV, Spiridonov YuYa, Shestakov VG, Ginevskiy NK (2005). [How to protect the corn from common ragweed]. *Zashchita i karantin rasteniy* 7:38–39 (In Russian)
- Bagrintseva VN, Kuznetsova SV (2010). [Dynamic of change of weed cenosis in corn self-pollinated line of maize]. *Zernovoye khozyaystvo Rossii* 6 (12):51–54 (In Russian)
- Bagrintseva VN, Kuznetsova SV (2011) [Comprehensive assessment of herbicides for corn]. *Grain growing of Russia* 1(13):31–34 (In Russian)
- Veletsky IN (1989) *Application technology of herbicides*. [2nd edition Revised and updated. L.: Agropromizdat] Leningrad. 176 p. (In Russian)
- Dospekhov BA (1979) *Metodika polevogo opyta* [Methods of field experiment]. Moscow: Kolos. 416 p. (In Russian)
- Kuznetsova SV, Bagrintseva VN, Guba EI (2011) [The effectiveness of the herbicides application on corn]. *Kukuruza i sorgo* 1:24–27 (In Russian)
- Kuznetsova SV, Bagrintseva VN (2015) [Weed plants in corn crops]. *Zemledelie* 6:44–45 (In Russian)
- Filev DS, Tsikov VS, Zolotov VI, Logachev NI (1980) *Metodicheskiye rekomendatsii po provedeniyu polevykh opytov s kukuruzoy* [Guidelines for conducting field experiments with corn]. VNII kukuruzy VASKhNIL. Dnepropetrovsk. 54 p.

Plant Protection News, 2019, 2(100), p. 40–45

OECD+WoS: 4.01+AM

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-40-45](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-40-45)

COMPARATIVE EFFICIENCY STUDY OF HERBICIDES IN CORN CROPS IN STAVROPOL TERRITORY

S.V. Kuznetsova, V.N. Bagrintseva*, E.I. Guba

All-Russian research scientific institute of corn, Pyatigorsk, Russia

*corresponding author, e-mail: maize-techno@mail.ru

In this work the herbicide mixture effect on the weed component of agrophytocenosis during the cultivation of corn hybrids was studied. Field tests were conducted in 2017–2018 in the conditions of the sufficient moisture zone of the Stavropol region on hybrids of different ripeness. For the experiment the tank mixture of herbicides was prepared with Dublon Super (0.4 kg/ha) + Egida (0.2 l/ha) and the herbicide Cordus Plus (0.44 kg/ha). The use of the preparation and tank mixture on the basis of several active ingredients allowed expanding the range of their action and to increase the effectiveness of the treatment against the herbicides. The biological efficiency of the studied herbicides was high, i.e. from 88.6 to 99.9%. Up to 2.13 t/ha grain yield increments were obtained. Experimental data allowed us to recommend the studied preparations to protect corn from weeds and to obtain guaranteed yield increase.

Key words: corn, herbicides, weeds, biological efficiency, yield

Received: 25.02.2019

Accepted: 30.05.2019

OECD+WoS: 1.06+IY

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-45-51](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-45-51)

Full-text Article

DETECTION OF MICROSPORIDIA INFECTING BEET WEBWORM *LOXOSTEGE STICTICALIS* (PYRALOIDEA: CRAMBIDAE) IN EUROPEAN PART OF RUSSIA IN 2006–2008

J.M. Malysh*, A.G. Kononchuk, A.N. Frolov

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

* corresponding author, e-mail: malyshjm@mail.ru

The beet webworm *Loxostege sticticalis* (L.) is a major insect pest that causes serious damage of agricultural crops in Russia, China and adjacent countries. Microsporidia are obligate intracellular parasites that negatively affect population density of many insect hosts including Lepidoptera. In particular, infection with microsporidia is an important mortality factor for *L. sticticalis*. Special methodology for the identification of microsporidia associated with terrestrial insects is required. In the present paper we report the results of screening beet webworm moths for microsporidia using two techniques, i.e. light microscopy (LM) and PCR. Adult moths were sampled in 2006–2008 in the European part of Russia: Rostov Region, Krasnodar Territory and Republic of Bashkortostan. Microsporidia infections were detected in insects collected from all sampling sites. Examination of smears by LM showed presence of microsporidian spores in 3.4% of samples (N=98). PCR analysis of the same dataset was positive in 6.7% of samples, including those containing and not containing spores. The higher infection rate determined by PCR is likely connected with the fact that only mature spores

can be unequivocally identified by LM, whereas PCR also allows detection of other developmental stages of microsporidia. Partial sequencing of an amplicon from Krasnodar Territory showed its close relatedness to *Endoreticulatus poecilomona* from *Poecilimon thoracicus* Fieber (Orthoptera: Tettigoniidae).

Key words: microsporidia, beet webworm, diagnostics, fluorescent microscopy, DAPI, PCR, rDNA, *Endoreticulatus*

Received: 04.02.2019

Accepted: 30.05.2019

Introduction

The beet webworm *Loxostege (Pyrausta) sticticalis* L. is an important outbreak pest, causing serious damage to the crops such as soybean, sugar beet, alfalfa, sunflower and other crops in Eurasia, including Northern China and steppe zones of European and Asian parts of Russia (Chen Xiao et al., 2008; Frolov et al., 2008). Recent studies have shown that the insect population density correlated with the prevalence of microsporidian infection in the previous generation, suggesting that microsporidia is an important factor of the regulation of beet webworm populations in nature (Frolov et al., 2008). Different species of microsporidia are able to infect beet webworm, including *Nosema loxostegi* (Issi et al, 1980), *Tubulinosema* sp., *Nosema* sp., *Nosema ceranae* (Malysh et al., 2018), *Tubulinosema loxostegi* (Malysh et al., 2013b) and *Vairimorpha thomsoni* (Malysh et al., 2013a).

The criterion of microsporidian infection rate is included into the specified forecast model of this dangerous agricultural pest (Malysh, 2006), substantiating the need for a reliable, fast and sensitive technique for detection of microsporidian infection. Light microscopic observation of microsporidian spores in insect tissue samples may reflect only a part of the infected individuals (Sokolova et al., 2004), but this technique is important to reveal the infection at the sporogonial stage of the parasite's development. Molecular detection is more sensitive and provides specified data on parasite prevalence, species composition and genetic polymorphism.

In the present paper, we report the results of screening of *L. sticticalis* adults collected in 2006–2008 at three sample sites located in European part of Russia for microsporidia using light microscopy (LM) and PCR and demonstrate infection with microsporidia belonging to the genus *Endoreticulatus*.

Materials and Methods

Adult moths of beet webworm were caught by net at three sampling sites in the European part of Russia: (a) pastures in Salsk District, Rostov Region, in July 2006; (b) meadows in Slavyansk District, Krasnodar Territory, in July 2007 and (c) a sugar beet field in Ufa District, Republic of Bashkortostan in August 2008 (Fig. 1). Moth were stored dried or fixed in ethanol (samples from Ufa) for 2–3 months at room temperature prior to analysis. For light microscopy (LM),

moths were homogenized individually in 50 µl of distilled water, smears were prepared and the homogenates were stored frozen at –22 °C for subsequent DNA extraction. Smears were examined using bright field light microscopy. The smears suspected for the presence of microsporidian spores were dried, fixed with methanol, stained with 5 µM aqueous diamidine phenylenindole (DAPI) solution and examined

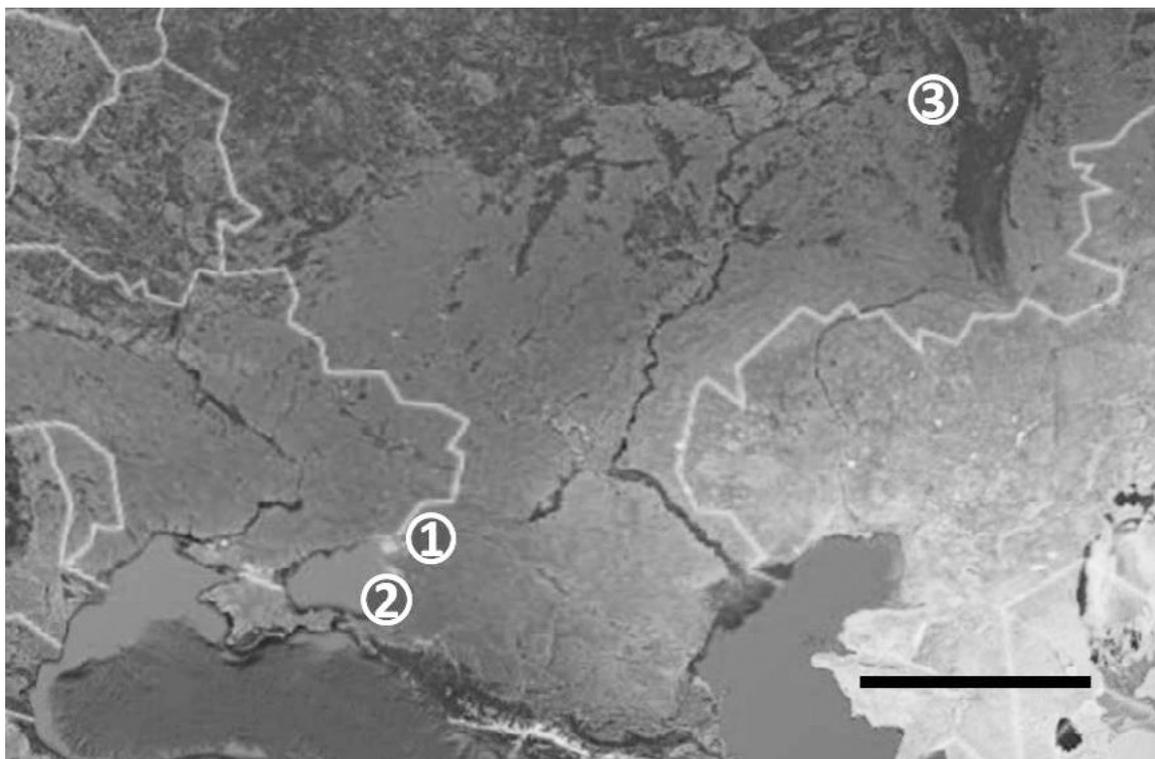


Figure 1. *Loxostege sticticalis* sampling sites: (1) Salsk District, Rostov Region, July 2006; (2) Slavyansk District, Krasnodar Territory, July 2007; (3) Ufa District, Republic of Bashkortostan August 2008

using Carl Zeiss Axioscope-2 equipped with epifluorescence and a digital camera (Tokarev et al., 2007).

For genomic DNA extraction, moth homogenates were re-homogenized with a plastic pestle in 1.5 mL microcentrifuge tubes in 100 µl lysis buffer, containing 2% CTAB, 1.4 M NaCl, 100 mM EDTA, 100 mM Tris-Cl (pH 8.0). After homogenization, 500 µl lysis buffer with 0.2% β-mercaptoethanol and 10 µl proteinase K (20 mg mL⁻¹) were added to the samples and incubated for 3 hrs at 65 °C. DNA was further extracted with phenol-chloroform, precipitated with isopropanol and washed with 70% ethanol (Sambrook et al., 1989). Dried DNA pellets were resuspended in 50 µl of deionized molecular grade water. PCR was run using a Bio-Rad iCycler in 10 µl volume containing 5 µl DNA template, PCR buffer, 0.25 mM dNTPs; 1 U Taq-polymerase (Sileks, Russia), and 0.5 pMol each of forward and reverse primers (Evrogen, Russia). We used 18f (forward) primer combined with one of the reverse primers (specific to small (ss) and large (ls) subunits of rRNA): ss530r, ss1492r or ls580r to obtain fragments ~500 bp, ~1200 bp or ~1800 bp long, respectively (Weiss, Vossbrinck, 1999). The PCR conditions consisted of an initial denaturation step (95 °C for 3 min), 30 amplification cycles (denaturation at 95 °C for 30 sec; annealing at 54 °C for 30 sec, elongation at 72 °C for 30–60 sec) and a final extension step (72 °C for 10 min). The PCR products were separated in 1% agarose gels. One of the amplicons was gel purified, cloned in pAL-TA vector (Evrogen, Russia) and sequenced to confirm the specificity of the amplified band.

A new sequence was corrected manually in BioEdit and compared with Genbank entries using BLAST utility. Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) was used to extract nucleotide sequence data for SSU rRNA gene of *Endoreticulatus* isolates (Table 1). The nucleotide sequences were aligned in BioEdit (Hall, 1999), nucleotide sequence similarity and pairwise genetic distances were calculated using built-in utilities of BioEdit. We used MEGA 7 software to align sequences of SSU rRNA gene of 7 isolates of genus *Endoreticulatus* from insects and *Vittaforma corneae* U11046 as the outgroup.

Phylogenetic analysis was undertaken using the Maximum Likelihood method in MEGA 7 with 500 iterations (Kumar et al., 2016). Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) model (Hasegawa et al., 1985) was chosen using MEGA 7 built-in utility (“Find best DNA/protein models”) to estimate the nucleotide substitution rate. Initial tree(s) for the heuristic search were obtained automatically by applying Neighbor-Joining and BioNJ algorithms to a matrix of pairwise distances estimated using the Maximum Composite Likelihood (MCL) approach, and then selecting the topology with superior log likelihood value. A discrete Gamma distribution was used to model evolutionary rate differences among sites (5 categories (+G, parameter = 0.1799)). The rate variation model allowed for some sites to be evolutionarily invariable ([+I], 42.09% sites). There were a total of 1150 positions in the final dataset.

Table 1. Genbank-accessible isolates of genus *Endoreticulatus* from insects

#	Microsporidia species/isolate	Host	Locality	Genbank accession #
1	<i>Endoreticulatus schubergi</i>	<i>Euproctis chrysorrhoea</i> (Lepidoptera: Noctuoidea)	United States	L39109
2	<i>Endoreticulatus bombycis</i>	<i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycoidea)	China	AY009115
3	<i>Endoreticulatus</i> sp. Shengzhou	<i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycoidea)	Zhejiang, China	JN688870
4	<i>Endoreticulatus</i> sp. Zhenjiang	<i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycoidea)	China	FJ772431
5	<i>Endoreticulatus</i> sp. CHW-2004 Taiwan	<i>Ocinara lida</i> Moore (Lepidoptera: Bombycoidea)	Taiwan	AY502944
6	<i>Endoreticulatus</i> sp. CHW-2004 Bulgaria	<i>Lymantria dispar</i> L. (Lepidoptera: Noctuoidea)	Bulgaria	AY502945
7	<i>Pleistophora</i> sp.*	<i>Spodoptera litura</i> Fabricius (Lepidoptera: Noctuoidea)	Japan: Tokyo, Ogasawara	LC052198
8	<i>Endoreticulatus</i> sp.	<i>Thaumetopoea processionea</i> L. (Lepidoptera: Noctuoidea)	Austria	EU260046
9	<i>Pleistophora</i> sp. Sd-N-IW8201	<i>Bombyx mori</i> L. (Lepidoptera: Bombycoidea)	Japan	D85500
10	<i>Pleistophora</i> sp. OSL-2015-2	<i>Spodoptera litura</i> Fabricius (Lepidoptera: Noctuoidea)	Japan: Tokyo, Ogasawara	LC422312
11	<i>Endoreticulatus poecilimonae</i>	<i>Poecilimon thoracicus</i> Fieber (Orthoptera: Tettigoniidae)	Bulgaria	KJ755827
12	<i>Endoreticulatus</i> sp. JMM-2007	<i>Loxostege sticticalis</i> (L.) (Lepidoptera: Pyraloidea)	Russia, Krasnodar Territory	MK929470
13	<i>Endoreticulatus</i> sp. Melnik	<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L. (Lepidoptera: Noctuoidea)	Bulgaria	KU900486
14	<i>Endoreticulatus</i> sp. Sofia	<i>Euproctis chrysorrhoea</i> L. (Lepidoptera: Noctuoidea)	Bulgaria	KU900485
15	<i>Endoreticulatus</i> sp. WFH-2014b	<i>Listronotus bonariensis</i> Kuschel (Coleoptera: Curculionidae)	New Zealand	KJ755828

**Pleistophora* was a collective genus name which was redefined with description of *Endoreticulatus* and other genera

Results

Examination of unfixed smears by LM revealed microsporidia spores in one moth in each of the three samples from 2006 (N=28), 2007 (N=25) and 2008 (N=36). Therefore, the prevalence of infection estimated by LM ranged from 2.8% to 4.0% (Table 2). DAPI staining confirmed the diagnosis, clearly demonstrating intensively stained double nuclei in these spores (Fig. 2). When PCR was applied for detection of microsporidia within the same samplings, positive signals (amplified band of expected size) were obtained for all LM-positive samples using each of the three primer combinations. In addition, one LM-negative sample per each of the three sampling appeared to be PCR-positive when 18f:530r (not shown) or 18f:1492r, but not 18f:ls580r primer sets, were used (Fig. 3). Thus, the prevalence rate of infection increased two-fold, ranging from 5.6% to 8% (Table 1). Average prevalence rate for the whole dataset (N=89) was 3.5±0.35% and 6.7±0.70% when estimated using LM and PCR respectively (Table 2).



Figure 2. DAPI staining of microsporidia spores revealed in beet webworm adults from Rostov Region in 2006

Forward-end sequencing of one of the amplicons obtained using 18f:1492r primer set resulted in a ~462 bp sequence with 99.7% sequence similarity with *Endoreticulatus poecilimonae* (Genbank accession # KJ755827) and ~94% similarity with *Endoreticulatus schubergi* (# L39109) and *Endoreticulatus bombycis* (# AY009115). The majority of isolates from Lepidoptera was very similar to *E. bombycis* and *E. schubergi*

(Table 3). The variable region sequenced for *E. poecilimonae* и *Endoreticulatus* sp. JMM-2007 (294 bp from 858 to 1152 position) contained 17 SNPs which were different from all other isolates but identical in these two isolates. However, similarity of these two isolates is slightly below 100% because of a single indel at position 1153 which was not reproduced in all other sequences assayed (Fig. 4) as well as in outgroup (not shown).

In the phylogram, *E. bombycis* and *E. schubergi* clustered with other isolates from Lepidoptera. *Endoreticulatus* sp. WFH 2014b from the Argentine stem weevil *Listronotus bonariensis* (# KJ755828) was in a basal position to this cluster while *E. poecilimonae* и *Endoreticulatus* sp. JMM-2007 formed a branch with 100% bootstrap support forming a sister-group relationships with the entire aforementioned group (Fig. 5).

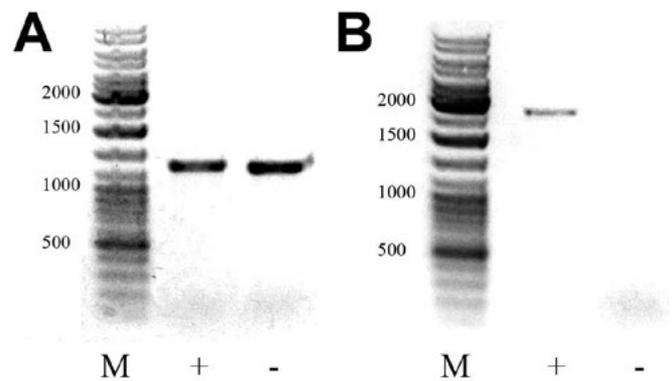


Figure 3. Electrophoretic profiles of amplification products using primers 18f:ss1492r (A) and 18f:ls580r (B) with samples of DNA, extracted from the beet webworm adults: “+” – LM-positive sample; “-” – LM-negative sample, “M” – molecular weight marker

Table 2. Microsporidia prevalence rates in beet webworm adults estimated using light microscopy and PCR

Sampling site, year	Number of analyzed insects, N	Positive samples estimated using			
		microscopy		PCR	
		n	% (n/N)	n	% (n/N)
Rostov Region, 2006	28	1	3.6	2	7.1
Krasnodar Territory, 2007	25	1	4.0	2	8
Republic of Bashkortostan, 2008	36	1	2.8	2	5.6
Total/Average(±standard error)	89	3	3.5±0.35	6	6.7±0.70

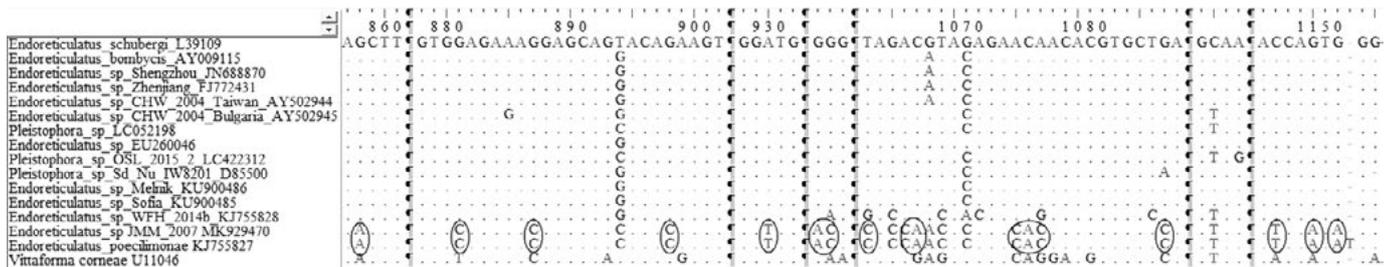


Figure 4. Alignments of nucleotide sequences of SSU rRNA gene of *Endoreticulatus* isolates. Ovals show the positions of *Endoreticulatus poecilimonae* and *Endoreticulatus* sp. JMM-2007 which are identical in these two isolates but different from the other ones

Table 3. Sequence similarity of SSU rRNA gene of *Endoreticulatus* isolates

*Iso- late #	Isolate names (Genbank accession #)	Sequence similarity (lower diagonal) and genetic distance (upper diagonal)															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	<i>Endoreticulatus schubergi</i> (L39109)	ID	0.011	0.008	0.008	0.008	0.013	0.008	0.005	0.011	0.005	0.005	0.014	0.041	0.064	0.064	0.137
2	<i>Endoreticulatus bombycis</i> (AY009115)	98.6	ID	0.003	0.003	0.003	0.013	0.011	0.011	0.013	0.005	0.005	0.013	0.043	0.061	0.061	0.147
3	<i>Endoreticulatus</i> sp. Shengzhou (JN688870)	98.9	99.7	ID	0.000	0.000	0.011	0.008	0.008	0.011	0.003	0.003	0.011	0.041	0.058	0.058	0.144
4	<i>Endoreticulatus</i> sp. Zhenjiang (FJ772431)	98.9	99.7	100	ID	0.000	0.011	0.008	0.008	0.011	0.003	0.003	0.011	0.041	0.058	0.058	0.144
5	<i>Endoreticulatus</i> sp. CHW 2004 Taiwan (AY502944)	98.9	99.7	100	100	ID	0.011	0.008	0.008	0.011	0.003	0.003	0.011	0.041	0.058	0.058	0.144
6	<i>Endoreticulatus</i> sp. CHW 2004 Bulgaria (AY502945)	98.4	98.6	98.9	98.9	98.9	ID	0.008	0.013	0.011	0.008	0.008	0.016	0.041	0.064	0.064	0.150
7	<i>Pleistophora</i> sp. (LC052198)	98.9	98.9	99.2	99.2	99.2	99.2	ID	0.011	0.003	0.005	0.005	0.013	0.038	0.055	0.055	0.143
8	<i>Endoreticulatus</i> sp. (EU260046)	99.2	98.9	99.2	99.2	99.2	98.6	98.9	ID	0.013	0.005	0.005	0.013	0.040	0.067	0.067	0.147
9	<i>Pleistophora</i> sp. OSL 2015-2 (LC422312)	98.6	98.6	98.9	98.9	98.9	98.9	99.7	98.6	ID	0.008	0.008	0.016	0.041	0.058	0.058	0.146
10	<i>Endoreticulatus</i> sp. Melnik (KU900486)	99.2	99.4	99.7	99.7	99.7	99.2	99.4	99.4	99.2	ID	0.000	0.008	0.038	0.061	0.061	0.147
11	<i>Endoreticulatus</i> sp. Sofia (KU900485)	99.2	99.4	99.7	99.7	99.7	99.2	99.4	99.4	99.2	100	ID	0.008	0.038	0.061	0.061	0.147
12	<i>Pleistophora</i> sp. Sd Nu IW8201 (D85500)	96.8	97.1	97.3	97.3	97.3	96.8	97.1	97.1	96.8	97.6	97.6	ID	0.041	0.068	0.068	0.149
13	<i>Endoreticulatus</i> sp. WFH 2014b (KJ755828)	95.8	95.8	96.0	96.0	96.0	96.0	96.3	96.0	96.0	96.3	96.3	94.5	ID	0.076	0.076	0.167
14	<i>Endoreticulatus</i> sp. JMM 2007 (MK929470)	93.7	94.2	94.5	94.5	94.5	93.9	94.7	93.7	94.5	94.2	94.2	92.1	92.9	ID	0.000	0.137
15	<i>Endoreticulatus poecilimonae</i> (KJ755827)	93.4	93.9	94.2	94.2	94.2	93.7	94.5	93.4	94.2	93.9	93.9	91.9	92.6	99.7	ID	0.137
16	<i>Vittaforma corneae</i> (U11046)	86.9	86.4	86.7	86.7	86.7	86.1	86.7	86.4	86.4	86.4	86.4	84.9	84.8	87.2	87.0	ID

* as given in Table 1

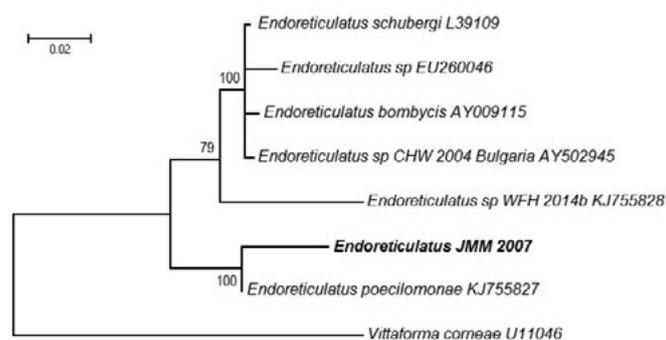


Figure 5. Molecular phylogenetic analysis by Maximum Likelihood method based on the Hasegawa-Kishino-Yano model (see Materials and Methods)

Discussion

It has been previously shown that the sensitivity of PCR is higher for detection of microsporidia (Sokolova et al., 2004) in comparison with LM. In our study, PCR showed presence of infection in samples both containing and not containing spores. Thus, the PCR is a reliable tool for microsporidia detection even when the spores have not been formed in mass yet to be visualized by LM. Notably, comparatively long DNA fragments (~1800 bp long, amplified using 18f:ls580r in the present study) are well preserved only within the spore

containing samples while shorter fragments can be amplified from samples not containing spores. Amplification of short fragments is useful for sensitive detection of the infection (Franzen, Müller, 2001) while longer fragments are required for precise species identification and elucidation of subtle genetic differences between closely related species (Tokarev, Issi, 2018). Meanwhile, microscopic examination of insect tissues remains an important part of the investigation process to estimate prevalence rate of patent infections, demonstrate spore morphology and collect spores for bioassays and other purposes.

Endoreticulatus is a genus of microsporidia infecting insects from different orders (Pilarska et al., 2015), but the majority of findings are associated with Lepidoptera. For example, *E. schubergi* was found in *Lymantria dispar*, *Hyphantria cunea* and *Choristoneura fumiferana* (Zwölfer, 1927; Cali, El Gary, 1991) and *E. bombycis* was described from *Bombyx mori* (Zhang et al., 1995). Several isolates of *Endoreticulatus* with unclear taxonomic position (lacking data sufficient for new species description) were reported from *Euproctis chrysorrhoea* (Pilarska et al., 2002), *Ocinara lida* (Wang et al., 2005), *Thaumetopoea processionea* (Hoch et al., 2008) and *Eilema complana* (Pilarska, 2017). All these insect hosts belong to Bombycoidea or Noctuoidea. Therefore, the finding of an isolate of *Endoreticulatus* in *L. sticticalis* extends the host range of this parasite genus to Pyraloidea.

In the first round of bioinformatics analysis performed in 2008, there were no Genbank entries showing 100% identity to the newly found rDNA haplotype. Among described species, only two (*E. schubergi* and *E. bombycis*) were genotyped and their SSU rRNA gene sequence similarity was about 94% as compared to the microsporidium found in Krasnodar Territory. These results were briefly mentioned in a presentation given at 37th Annual Meeting of the Society of Invertebrate Pathology in 2010 and in a methodological paper (Tokarev et al., 2012) and a review (Malysh et al., 2013a), both papers published locally and with some mistakes. For example, in the review paper the spore morphotype from Krasnodar Territory is incorrectly indicated as the morphotype for Novosibirsk Region (Malysh et al., 2013a, Fig. 1A) and vice versa, the morphotype from the latter sampling site is designated as the one from the former sampling site (ibidem, Fig. 2A). More recent examination of all information accumulated after that time showed identical trends in microsporidia presence and

sensitivity of the two different detection methods using three independent datasets from three years of study. Moreover, high level of sequence similarity of the microsporidia from *L. sticticalis* to *E. poecilimonae* from the bellied bright bush-cricket *Poecilimon thoracicus* (# KJ755827) was also observed. Although the properly read DNA fragment was short, the sequenced region was variable among species and all other sequences showed similarity below 94% when compared to the parasites of the bellied bright bush-cricket and the beet webworm (Table 3). Based on this, we suggest that the beet webworm microsporidium belongs to the same species as *E. poecilimonae*, or at least to a group of species which are more closely related to each other than to *E. schubergi* and *E. bombycis* (Fig. 5).

Further studies are needed to elucidate the genetic borders between the *Endoreticulatus* species from different hosts and localities.

The authors are thankful to anonymous reviewers for their valuable suggestions for manuscript improvement and Yuri Tokarev (All-Russian Institute of Plant Protection) for English translation.

The research is supported by Russian Foundation of Basic Research, grant # 17-04-00871.

References

- Cali A, El Garhy M (1991) Ultrastructural study of the development of *Pleistophora schubergi* Zwölfer, 1927 (Protozoa, Microsporida) in larvae of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* and its subsequent taxonomic change to the genus *Endoreticulatus*. *J Eukaryot Microbiol* 38:271–278
- Chen X, Zhai B, Gong R, Yin M et al (2008) Source area of spring population of meadow moth, *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Pyralidae), in Northeast China. *Acta Ecol Sin* 28(4):1521–1535. [http://doi.org/10.1016/S1872-2032\(08\)60054-2](http://doi.org/10.1016/S1872-2032(08)60054-2)
- Franzen C, Müller A (2001) Microsporidiosis: human diseases and diagnosis. *Microbes Infect* 3(5):389–400
- Frolov AN, Malysh YuM, Tokarev YuS (2008) Biological features and population density forecasts of the beet webworm *Pyrausta sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyraustidae) in the period of low population density of the pest in Krasnodar Territory. *Entomol Rev* 88(6):666–675. <http://doi.org/10.1134/S0013873808060055>
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T (1985) Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J Mol Evol* 22:160–174.
- Hoch G, Verucci S, Schopf A (2008) Microsporidian pathogens of the oak processionary moth *Thaumetopoea processionea* (L.) (Lep., Thaumetopoeidae), in eastern Austria. *Mitt Dtsch Ges Allg Angew Ent* 16:225–228
- Issi IV, Simchuk PM, Radishcheva DF (1980) [Microsporidiosis of beet webworm *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyraloidea)]. *Bulleten VIZR* 48:3–6 (In Russian)
- Kumar S, Stecher G, Tamura K (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol Biol Evol* 33:1870–1874. <http://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Malysh JM (2006) Features of the beet webworm biology during its low population density in Northern Caucasus. *PhD thesis*, St. Petersburg. 175 p.
- Malysh JM, Ignatieva AN, Artokhin KS, Frolov AN, Tokarev YS (2018) Natural infection of the beet webworm *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Crambidae) with three Microsporidia and host switching in *Nosema ceranae*. *Parasitol Res* 117(9):3039–3044. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5987-3>
- Malysh JM, Kononchuk AG, Nurzhanov AA, Frolov AN et al (2013a) Morphological and genetic diversity of microsporidia infecting beet webworm *Loxostege sticticalis* (L.) (Pyraloidea, Crambidae) in Russia. *Eurasian Entomol J* 12(6):543–548
- Malysh JM, Tokarev YS, Frolov AN, Issi IV et al (2013b) *Tubulinosema loxostegi* sp. n. (Microsporidia: Tubulinosematidae) from the beet webworm *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Crambidae) in Western Siberia. *Acta Protozool* 52(4):299–308. <http://doi.org/10.4467/16890027AP.13.027.1319>
- Pilarska D, Linde A, Solter L, McManus M, Takov D (2002) New data on the biology of the microsporidium *Endoreticulatus schubergi* infecting the browntail moth *Euproctis chrysoorhoea* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Acta Zool Bulg* 54:55–62
- Pilarska DK, Radek R, Huang WF, Takov DI et al (2015) Review of the genus *Endoreticulatus* (Microsporidia, Encephalitozoonidae) with description of a new species isolated from the grasshopper *Poecilimon thoracicus* (Orthoptera: Tettigoniidae) and transfer of *Microsporidium itiiiti* Malone to the genus. *J Invertebr Pathol* 124:23–30. <http://doi.org/10.1016/j.jip.2014.09.007>
- Pilarska D, Takov D, Hylis M, Radek R, Fiala I, Solter L, Linde A (2017) Natural occurrence of microsporidia infecting Lepidoptera in Bulgaria. *Acta Parasitol* 62(4):858–869. <http://doi.org/10.1515/ap-2017-0104>
- Sambrook J, Fritsch E, Maniatis T (1989) Molecular cloning: a laboratory manual. New York: Cold Spring Harbor Laboratory.
- Sokolova YuYa, Sokolov IM, Fuxa JR (2004) Identification of Microsporidia infections in nature: light microscopy or PCR? *Protistology* 3:273–281

- Tokarev YS, Malysh JM, Frolov AN (2012) [Modern approaches to detection of insect pathogens when processing adults of Lepidoptera]. *Metody fitosanitarnogo monitoringa i prognoza*. St. Petersburg: Innovatsionnyy tsentr zashchity rasteniy. 15–21 (In Russian)
- Tokarev YS, Issi IV (2018) Molecular phylogeny in modern systematics of microsporidia. *Mikologiya i Fitopatologiya* 52(1):5–21
- Tokarev YS, Sokolova YY, Entzeroth R (2007) Microsporidia-insect host interactions: teratoid sporogony at the sites of host tissue melanization. *J Invertebr Pathol* 94:70–73. <http://doi.org/10.1016/j.jip.2006.08.006>
- Wang CY, Solter LF, T'sui WH, Wang CH (2005) An *Endoreticulatus* species from *Ocinara lida* (Lepidoptera: Bombycidae) in Taiwan. *J Invertebr Pathol* 89:123–135
- Weiss LM, Vossbrinck CR (1999) Microsporidian molecular biology and phylogeny. In: Wittner M (Ed.) The microsporidia and microsporidiosis. Washington DC. 129–171
- Zhang L, Du Y, Wan YJ (1995) A new species of *Endoreticulatus* (Protozoa, Microspora) from the larva of silkworm *Bombyx mori*. *Xinan Nongye Daxue Xuebao* 17 (4):363–365
- Zwölfer W (1927) Die Pebrie des Schwammspinner und Goldafters, eine neue wirtschaftlich bedeutungsvolle Infektionskrankheit. *Z Angew Entomol* 12:498–500

Вестник защиты растений, 2019, 2(100), с. 45–51

OECD+WoS: 1.06+1Y

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-45-51](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-45-51)

Полнотекстовая статья

ВЫЯВЛЕНИЕ МИКРОСПОРИДИЙ, ЗАРАЖАЮЩИХ ЛУГОВОГО МОТЫЛЬКА
LOXOSTEGE STICTICALIS (PYRALOIDEA: CRAMBIDAE)
В ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В 2006–2008 ГОДАХ

Ю.М. Малыш*, А.Г. Конончук, А.Н. Фролов

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

*ответственный за переписку, e-mail: malyshjm@mail.ru

Луговой мотылёк *Loxostege sticticalis* (L.) – опасный вредитель сельскохозяйственных культур в России, Китае и соседних странах. Микроспоридии – облигатные внутриклеточные паразиты, которые отрицательно влияют на плотность популяций многих видов насекомых, включая чешуекрылых. В частности, заражение микроспоридиями – важный фактор смертности *L. sticticalis*. Для идентификации микроспоридий наземных насекомых требуются специальные методические подходы. В настоящей работе мы описываем результаты мониторинга микроспоридий в имаго лугового мотылька с помощью двух методик – световой микроскопии и ПЦР. Имаго собирали в 2006–2008 в Европейской части России: Ростовской области, Краснодарском крае и в Республике Башкортостан. Заражение микроспоридиями выявлено в насекомых, собранных во всех точках сбора. Исследование мазков с помощью световой микроскопии показало присутствие спор микроспоридий в 3.4% образцов (N=98). ПЦР-анализ этой же выборки был положителен для 6.7% образцов, включая таковые, содержащие и не содержащие споры. Более высокие показатели зараженности, выявленные с помощью ПЦР, скорее всего, связаны с тем, что только зрелые споры могут быть однозначно идентифицированы с помощью световой микроскопии, тогда как ПЦР позволяет выявлять другие стадии развития микроспоридий. Частичное секвенирование ампликона из Краснодарского края показало его высокое родство с *Endoreticulatus poecilomonaе* из *Poecilimon thoracicus* Fieber (Orthoptera: Tettigoniidae).

Ключевые слова: микроспоридии, луговой мотылёк, диагностика, флюоресцентная микроскопия, ДАФИ, ПЦР, рДНК, *Endoreticulatus*

Поступила в редакцию: 04.02.2019

Принята к печати: 30.05.2019

РАЗРАБОТКА И РЕАЛИЗАЦИЯ ИННОВАЦИОННОГО ПРОЕКТА ПО СОЗДАНИЮ ОПЫТНОГО ПРОИЗВОДСТВА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД

Л.Г. Данилов, В.А. Павлюшин

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

DEVELOPMENT AND IMPLEMENTATION OF AN INNOVATIVE PROJECT ON THE ESTABLISHMENT OF EXPERIMENTAL PRODUCTION OF BIOLOGICAL PREPARATIONS BASED ON ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES

L.G. Danilov, V.A. Pavlyushin

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

Биологические средства защиты растений заслуживают всё большего внимания как альтернатива химическим пестицидам в качестве их замены или использования в интегрированных системах защиты растений и в органическом земледелии. Использование микроорганизмов, в том числе и энтомопатогенных нематод (ЭПН), в биологической борьбе с насекомыми-вредителями повсеместно повысилось. Энтомопатогенные нематоды и их симбиотические бактерии используются либо изучаются во всем мире как агенты микробиологического контроля численности насекомых вредителей и, частично, против возбудителей заболеваний растений. Нематодно-бактериальный комплекс высокотоксичен для многих видов насекомых. Инвазионные личинки активно проникая в тело насекомых, выпускают в его гемолимфу симбиотических бактерий, которые убивают насекомое и способствуют развитию и размножению нематод в теле насекомого. Бактерии быстро размножаются и производят комплекс метаболитов преодолевая таким образом иммунную систему насекомых, приводят к их гибели и подавляют рост различных грибных и бактериальных возбудителей заболеваний внутри тела погибшего насекомого (Данилов, 2004; Poinar, 1990). Энтомонематоды интенсивно размножаются в насекомых

и на искусственных питательных средах, их можно заменять обычными методами, оставаясь в почве, они могут длительное время (более 2-х лет) существовать при отсутствии насекомого-хозяина. Устойчивость ко многим современным пестицидам и отсутствие патогенного действия на растения, дождевых червей и позвоночных позволяет использовать этих паразитов в программах управления численностью насекомых-вредителей (Voemare, Laumond, Mauleon, 1996).

Во Всесоюзном институте защиты растений в течение длительного времени осуществлялись исследования по изучению особенностей биологии, экологии и паразитической активности ЭПН в отношении 38 фитофагов, разработке технологий производства, применения и создания биопрепаратов (Немабакт и Энтонем-Ф) на основе энтомопатогенных нематод (Данилов, 1980; Данилов, 2007; Данилов и др., 2008).

Особое значение для повышения конкурентоспособности растительной продукции и получения качественных продуктов питания имеют системы биологической защиты сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней. В этой связи уместно подчеркнуть важнейшие элементы инновационного процесса (табл. 1).

Таблица 1. Важнейшие элементы инновационного процесса

1	Завершенные НИР, прошедшие научно-производственную апробацию и государственные испытания (новые защитные биопрепараты, новые системы защиты, отселектированные маточные культуры энтомофагов, опытные биотехнологические производства, НТД)
2	Наличие устойчивого рынка, который дифференцирует цены овощи, фрукты, картофель и др. в зависимости от типов защиты растений. Нормативная база на экологически качественную растительную продукцию, т.е. сертификаты
3	Инвестор, организация биотехнологических производств, биофабрик, стационары для зональных производственных испытаний интегрированных и биологических систем защиты сельскохозяйственных культур (зональные регламенты и системы защиты)

С учётом актуальности проблемы в ВИЗР с 1990 г. проводились исследования по разработке способа массового производства энтомопатогенных нематод на ИПС. За основу был принят метод культивирования нематод на ИПС с использованием инертного носителя (Bedding, 1981, 1984). Биологическую основу получения массовой культуры нематод на искусственных питательных средах составляют чистые отселектированные маточные культуры симбиотических бактерий и моноксенные культуры инвазионных личинок нематод (Akhurst, 1980). Определённые потенциальные возможности производства нематод

на питательных средах растительного и животного происхождения было проведено с адаптацией и совершенствованием методов Беддинга (Bedding, 1981) и Вутса (Wouts, 1981). Подобранный и экспериментально апробированный компонентный состав искусственных питательных сред (ИПС) позволяет получать продуктивный выход инвазионных личинок с 1 г среды от 800 до 1500 особей без ухудшения показателей их патогенности (Данилов и др., 2003).

В инновационном освоении результатов использования ЭПН в биологической защите растений особое значение

имела созданная на базе ВИЗР опытно-технологическая линия по наработке опытных образцов культур энтомопатогенных нематод. В процессе эксплуатации линии появилась возможность получать и размножать маточные культуры моноксенных инвазионных личинок и первичные формы симбиотических бактерий любого из перспективных видов и штаммов нематод, что позволяло обеспечивать исследовательский процесс экспериментальными образцами культур нематод в объёмах, необходимых для проведения лабораторных, полевых и производственных испытаний.

За период работы над проектом применительно к условиям промышленного производства проведена оптимизация процесса культивирования нематод на ИПС с определением оптимальных соотношений инокулюмов бактерий и инвазионных личинок нематод в расчёте на 1 г питательной среды при определенном объёме элементов инертного носителя. Кроме того, были изучены и разработаны наиболее оптимальные способы:

- а) моноксенизации нематодных культур;
- б) выделения, идентификации и сохранения чистых культур симбиотических бактерий;
- в) инокуляции микроорганизмов в ИПС;
- г) аэрации и температурный режим процесса выращивания нематодно-бактериальных комплексов;
- д) отделения зрелой культуры нематод, т.е. инвазионных личинок от остатков питательной среды и инертного носителя.

Для культивирования нематод были также разработаны и прошли апробацию различные типы биореакторов – т.е. ёмкостей для выращивания нематод [Данилов и др., 2004]. Основные узлы и способы массового размножения нематод по мере их разработки адаптировались и включались в функционирующую на базе ВИЗР опытно-технологическую линию, оригинальность которой подтверждена тремя патентами РФ (Данилов и др., 1999; Данилов, Айрапетян, 2004; Данилов, 2012).

В отличие от многообразия препаративных форм, известных для химических средств защиты растений, энтомопатогенные нематоды как живые организмы весьма требовательны к условиям существования в период длительного хранения. В нематодных препаратах в качестве действующего вещества выступают живые инвазионные личинки. По результатам работы были предложены две препаративные формы нематодных препаратов. Препаративные формы представляют собой порошкообразную массу с содержанием нематод от 200 тыс. до 250 тыс. инвазионных личинок в 1 г препарата. Препаративные формы обеспечивают сохранение жизнеспособности нематод в условиях хранения при комнатной температуре в течение 10–30 суток и при температуре 2–8 °С не менее 3–6 месяцев. Проведены испытания этих форм на различных культурах и проведено их патентование (Мевлюдов и др., 2000; Данилов и др., 2003).

К проекту создания промышленного производства нематодных препаратов проявлялся интерес со стороны частных инвесторов и государственных учреждений – ИЧП «Тайга», Государственное научно-внедренческое экологическое малое предприятие «Экорс» и Государственный инженерный центр «Реактив» (Башкортостан), ЗАО «Дзержинскхиммаш», АННПО «Петербургский

центр биоэкологии», НПА «Биота», ЗАО «БИО компания Оранта». Однако не было достигнуто успешного сотрудничества по причинам: а) присутствие риска в связи с отсутствием данных у разработчиков по отдельным процессам промышленного производства нематод; б) необходимость единовременных больших финансовых вложений; в) наличие рисков в связи с наукоемкостью проекта. Кроме того, необходимо учитывать и то, что нестабильное экономическое состояние нашей страны в этот период времени не способствовало разворачиванию наукоемких производств, а представители частного капитала в таких условиях не хотели рисковать и осваивать проекты, которые не гарантировали в короткие сроки окупаемость вложенных инвестиций.

Определенная финансовая поддержка и участие в разработке промышленной технологии производства нематодных препаратов была оказана авторам проекта со стороны «БИО компания Оранта» и ЗАО «Дзержинскхиммаш».

В этой связи ВИЗР было принято решение о выдвижении проекта на участие в конкурсной программе «СТАРТ», проводимой Фондом содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (МП НТС). По условиям выполнения исследований по программе «СТАРТ» было создано малое предприятие ООО «БИОДАН». В 2005 год в рамках программы между ООО «Биодан» и ООО «Защита-Сервис», а также с СХПК «Русский фермер» были заключены Соглашения о намерениях реализации проекта «Разработка промышленной технологии и создание производства биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод». Однако в качестве инвестора проекта Фондом было утверждено ООО «Атлант».

По программе Фонда были выполнены соответствующие исследования и получены положительные результаты по хранению симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод в состоянии глубокой заморозки, в лиофилизированном состоянии в течение 6–10 месяцев и в питательном бульоне при температуре 2–5 °С с оценкой качества бактериальных клеток по интенсивности развития нематод на искусственной питательной среде и инвазионной активности их в отношении насекомых-хозяев. Полученные результаты работы свидетельствуют о возможности в перспективе иметь запас посевного материала бактерий для успешного функционирования промышленного производства в течение 30–40 дней и таким образом, частично снимается один из критических вопросов, которые возникают в переговорах с потенциальными инвесторами. Однако для обеспечения промышленного производства необходимо еще получить данные по более длительным срокам хранения бактерий (Данилов и др., 2014). Кроме того в производственных условиях была оценена эффективность выращивания нематод и бактерий в биореакторах оригинальной конструкции и с использованием оригинального блока отделения биомассы нематод от остатков ИПС и инертного носителя.

ООО «БИОДАН» планомерно проводится маркетинговая работа по подготовке рынка сбыта своей продукции. В 2015 году ООО «Биодан» от Правительства С.-Петербурга получен сертификат «Резидента Центра Импортзамещения и Локализации С.-Петербурга». Потребность тепличного растениеводства в нематодных препаратах достигает

более 500 гектарных норм в год, а спрос превышает предложение в десятки раз.

Между ООО «БИОДАН» и ВИЗР заключен договор о сотрудничестве, в котором предусматриваются все вопросы взаимоотношений между обеими сторонами. На базе ООО «БИОДАН» расширяются исследования по изучению возможности использования продуктов метаболизма энтомопатогенных нематод и их симбиотических бактерий в качестве средства борьбы с насекомыми, почвенными фитопатогенами и фитонематодами. О перспективности таких исследований свидетельствуют данные зарубежных авторов и результаты нашей работы (Данилов и др., 2017).

В целом нематодные биопрепараты и их симбиотические бактерии хорошо вписываются в системы биозащиты закрытого грунта и органического земледелия. Биологическая эффективность указанных средств на таких опасных фитофагах как трипсы, долгоносики, грибные мухи на шампиньонах, проволочники на картофеле, капустные мухи на капусте находится в интервале 64–98%. При испытаниях, например, в Центральной Якутии Энтонема-Ф против капустных мух на капусте прибавка урожая составляла 262.9 ц/га, при этом чистый доход составил 235.2 тыс. руб/га (Слепцов и др., 2004).

О востребованности наших препаратов со стороны сельхозпроизводителей различных форм собственности свидетельствуют результаты реализации готовой продукции. За последние 3 года по данным ВИЗР и ООО «Биодан» на опытном производстве было наработано и реализовано около 1500 гектарных норм нематодных препаратов.

Нематодные препараты ежегодно закупаются отдельными партиями крупными агропромышленными комплексами, крестьянскими фермерскими хозяйствами и владельцами личных подсобных участков и садоводческих товариществ.

Для дальнейшей успешной реализации проекта требуют разрешения вопросы, связанные с расширением объемов наработок препаратов, проведения рекламных акций и поиск гарантированных потребителей готовой продукции. В настоящее время менеджеры компании ведут интенсивную работу по маркетингу рынка сбыта. Оформляется

база данных сельхозпредприятий и фермерских хозяйств потребителей нематодных препаратов.

Таким образом, накопленные многолетние результаты научно-исследовательской работы и созданная научно-техническая документация по производству и применению нематодных препаратов отражают основные этапы современного инновационного процесса. Научно-техническая документация на регистрацию Немабакта и Энтонема-Ф рассмотрена и утверждена Ученым Советом ВИЗР и включает следующее: заключение Комиссии по микробным средствам защиты растений и биоудобрениям РАСХН; экспертное заключение Всероссийского научно-исследовательского института биологической защиты растений; заключение Федеральной службы по экологическому, технологическому и атомному надзору; экспертное заключение НИЦ ТБК; заключение ВНИИ природы; экспертное заключение АзНИИРХ; отчет ХБО при РАН; справка ВНИТИАФ о непатогенности и опасности культуры *Xenorhabdus nematophilus*; Санитарно-эпидемиологическое заключение; Технические условия и технологические регламенты на производство препаратов; рекомендации по применению пестицида для личных подсобных хозяйств; тарная этикетка для сельскохозяйственного производства и тарная этикетка для личных подсобных хозяйств.

Государственные испытания препаратов на основе ЭПН проведены в регионах: Ленинградская, Псковская, Новгородская, Нижегородская, Московская, Ивановская, Брянская, Иркутская, Ростовская области, Краснодарский край, Республика Коми, Республика Саха (Якутия) на картофеле, капусте, овощных и декоративных культурах защищенного грунта, шампиньонах, облепихе, розах, смородине.

Пример освоения и внедрения в промышленное производство перспективного инновационного проекта ВИЗР и малым предприятием ООО «Биодан», с большой вероятностью следует рассматривать как типичный, показывающий возможности развития малых форм предприятий в научно-технической сфере по внедрению в производство уникальных научных разработок, обеспечивающих использование систем биологической защиты растений.

Библиографический список (References)

- Данилов ЛГ (1980) Особенности инвазирования и последующего развития нематод *Neoplectana carpocapsae* штамм “agriotos” в насекомых при свободном контакте паразита с хозяином. Гельминты насекомых. М.: Наука. 42–46
- Данилов ЛГ (2004) Разработка и практическое использование биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод для защиты растений. Теоретические основы разработки биологических средств защиты растений, новые отселектированные формы полезных организмов, технологии изготовления биологических средств защиты растений и их применение. М. 32–52
- Данилов ЛГ (2007) Биологические препараты на основе энтомопатогенных нематод – Немабакт и Энтонем-Ф. *Агро-Эксклюзив* 2:56–59
- Данилов ЛГ (2012) Способ для производства биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод. Патент на изобретение RUS 2444195
- Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ (2004) Способ и линия для производства биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод. Патент на изобретение RUS 2239315
- Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ, Искрицкий ВЛ (2003) Способ получения препаративной формы для хранения энтомопатогенных нематод семейств Steinernematidae и Heterorhabditidae. Патент на изобретение RUS № 221029
- Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ, Нашекина ТЮ (2014) Способ подготовки симбиотических бактерий рода *Xenorhabdus*, выделенные из нематод вида *Steinernema feltiae protense* к хранению. Патент на изобретение RUS 2053790
- Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ, Нашекина Т.Ю, Турицин В.С (2003) Оптимизация процесса культивирования энтомопатогенных нематод семейства Steinernematidae (Nematoda: Rhabditida) на искусственных питательных средах с использованием инертного носителя. *Вестник защиты растений* 1:54–58

- Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ, Саятов ЮП, Саятов ЛЮ (2004) Способ получения препаративной формы для хранения энтомопатогенных нематод семейств Steinernematidae и Heterorhabditidae. Патент на изобретение RUS 2225107
- Данилов ЛГ, Зорина ЕА, Нащекина ТЮ (2017) Антибиотическая активность *Xenorhabdus* sp.(Enterobacteriaceae) симбионтов энтомопатогенных нематод (Rhabditidae: Steinernematidae). *Вестник защиты растений* 3(93):33–38
- Данилов ЛГ, Махоткин АГ, Васильев СВ, Турицин ВС (2008) Взаимодействие энтомопатогенных нематод *Steinernema carpocapsae* с фауной членистоногих и природными популяциями этих паразитов в биотопе плодового сада. *Паразитология* 42(2):129–138
- Данилов ЛГ, Павлюшин ВА (2015) Состояние, перспективы изучения и практического использования энтомопатогенных нематод (Steinernematidae) и их симбиотических бактерий (*Xenorhabdus*) против насекомых и возбудителей заболеваний растений. *Вестник защиты растений* 3(85):10–15
- Данилов ЛГ, Сычев АЕ, Айрапетян ВГ, Сычев ВА (1999) Линия для производства препарата из энтомопатогенных нематод. Патент на изобретение RUS 2136745
- Мевлюдов РЯ, Данилов ЛГ, Айрапетян ВГ, Сычев АЕ (2000) Способ подготовки биологического препарата нематод к хранению и последующему его использованию. Патент на изобретение RUS 2144289
- Слепцов СС, Власенко НГ, Данилов ЛГ (2004) Экологически безопасная защита капусты белокочанной от капустной мухи в экстремальных условиях севера). *Вестник защиты растений* 3:51–56
- Akhurst RJ (1980) Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp. bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. *J Gen Microbiol* 121(2):303–309
- Bedding RA (1981) Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematode) for field control of insect pests. *Nematologica* 27(1):109–114
- Bedding RA (1984) Large scale production, storage and transport of the insectparasite nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Ann Appl Biol* 104(1):117–120
- Boemare N, Laumond C, Mauleon H (1996) The entomopathogenic nematode-bacterium complex: Biology, live cycle and vertebrate safety. *Biocontrol Sci Technol* 6(3):333–345
- Poinar G (1990) Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler R, Kaya HK (eds) Entomopathogenic nematodes in biological control. Boca Raton: CRC Press. 23–61
- Wouts WM (1981) Mass production of the entomogenous *Heterorhabditis heliothidis* (Nematoda: Heterorhabditidae) on artificial media. *Nematologica* 13(4):467–469

К 80-ЛЕТИЮ ВЫХОДА ПЕРВОГО НОМЕРА «ВЕСТНИКА ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ»

TO THE 80TH ANNIVERSARY OF THE FIRST ISSUE OF «PLANT PROTECTION NEWS»

В 1939 году в Ленинграде вышел первый номер подписного журнала «Вестник защиты растений» под грифом Всесоюзного института защиты растений (ВИЗР). Этот журнал должен был завершить активную (начиная с момента организации института в 1929 г.) деятельность ВИЗР по созданию и объединению существовавших в стране периодических и продолжающихся фитосанитарных изданий¹. Ответственным редактором был назначен академик Николай Михайлович Кулагин (1860–1940), который в те годы работал в ВИЗР и одновременно был председателем секции защиты растений ВАСХНИЛ. После его смерти в 1940 г. ответственным редактором журнала стал директор ВИЗР М.П. Елсуков. В состав редакционной коллегии журнала входили ведущие ученые ВИЗР и других учреждений: И.М. Поляков, В.И. Гусев, М.С. Дунин, К.М. Степанов, В.Н. Старк, С.М. Тупеневич, Б.Ю. Фалькенштейн, И.П. Яценко и В.Н. Щеголев. К сожалению, публикация журнала прервалась на втором номере за 1941 г. (в 1939-м г. вышел только один номер, в

1940-м г. – 5 номеров; разовый тираж 2000 экз.). Тираж второго номера почти весь погиб во время пожара. Был сверстан третий номер, подготовлены №№ 4 и 5. На обложке первого выпуска (1939) стоит символический номер – 1(20), что означает преемственность журнала с изданием серии под названием «Защита растений. Сборник», выпускавшейся ВИЗР с 1935 по 1939 гг. Всего вышло 19 сборников, в среднем по 4 в год: в 1935 – 7, 1936 – 4, 1937 – 4, 1938 – 2, 1939 – 2. Предшественником последних можно считать «Сборник ВИЗРа» (4 номера в 1932 г., 3 – в 1933 г. и 1 – в 1934 г.), печатавшийся с черно-белой обложкой и рассылавшийся всем желающим «за счет заказчика по действительной цене» большим по тем временам тиражом, – 3500 экз.

«Сборник ВИЗРа», в свою очередь, заменил подписной журнал «Защита растений от вредителей» (1924–1931, тома I–VIII), издававшийся в Ленинграде с подзаголовком (до 1929 г.) «Бюллетень Постоянного Бюро Всероссийских Энтомо-Фитопатологических Съездов». Следует заметить, что с самого начала его подзаголовки на французском (затем на английском) языке были «Защита растений». В 1931 г. он назывался уже и по-русски «Защита растений» (с сохранением порядкового номера тома – VIII) и

¹ См. также: Историческая справка о научном журнале ВИЗР «Вестник защиты растений», Вестник защиты растений, 1999, №1, с.106; Периодические и продолжающиеся издания Всероссийского института защиты растений, Вестник защиты растений, 2009, №2, с.68–70.

имел гриф ВИЗР. Журнал рассылался подписчикам часто в двоянных или даже тройных номерах (6 номеров в год).

В 1990-е гг. ВИЗР вместе со всей страной переживал трудный период развития, что негативно сказалось на объеме и регулярности его издательской деятельности. В 1998 г. (после четырехлетнего перерыва) опубликован последний Бюллетень ВИЗР (№78/79), а в 2000 г. – последний Сборник научных трудов ВИЗР (№100 по каталогу объединенной библиотеки ВИЗР и ВНИИСХМ).

В 1999 г. Ученым советом и дирекцией ВИЗР было принято решение о возобновлении издания периодического журнала «Вестник защиты растений» (ISSN 1727-1320), имеющего статус международного научного издания и одновременно заменившего собой продолжающиеся издания «Бюллетень ВИЗР» и «Сборник трудов ВИЗР». В состав Редакционного совета Вестника были включены ведущие ученые России и некоторых соседних стран: А.С. Васютин, А.Н. Власенко, В.И. Долженко, Ю.Т. Дьяков, Б.Ф. Егоров, В.Ф. Зайцев, В.А. Захаренко, А.А. Макаров, Н.М. Мыльников, В.Д. Надыкта, К.В. Новожилов, В.А. Павлюшин, К.Г. Скрябин, А.И. Сметник, М.С. Соколов, П.Г. Фоменко, Ю.Б. Шуровенков (Россия), С. Прушински (Польша), С.В. Сорока (Беларусь) и Д. Шпаар (Германия). В редакционную коллегию вошли: О.С. Афанасенко, В.Н. Буров, Н.А. Вилкова, Ю.И. Власов, К.Е. Воронин, И.Я. Гричанов, Н.Р. Гончаров, В.И. Долженко, В.Р. Жаров, А.Ф. Зубков, М.М. Левитин, Н.Н. Лулева, А.К. Лысов, Г.А. Наседкина, К.В. Новожилов, В.А. Павлюшин, И.М. Соколов, Г.И. Сухорученко, В.И. Танский и С.Л. Тютереv. За прошедшие 20 лет под руководством главного редактора академика РАН В.А. Павлюшина журнал приобрел широкую известность, стал подписным, публиковал материалы не только на русском, но и на английском языках; он рассылается в библиотеки многих стран мира. Следует отметить самоотверженную работу заведующего редакцией профессора А.Ф. Зубкова (1938–2016) и секретаря редколлегии Д.С. Переверзева. Весьма значительна и важна была финансовая поддержка, которую оказывал Вестнику Инновационный центр защиты растений (директор Н.Р. Гончаров).

В 1999 г. опубликован один пилотный выпуск, в 2000-2005 гг. – публиковалось по 3 выпуска в год, а с 2006 г. журнал печатается в 4-х выпусках ежегодно и входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные

научные результаты диссертаций» по биологическим и сельскохозяйственным специальностям (Перечень ВАК). В 2005 г. издан полный перевод всех трех номеров Вестника на английский язык под названием Plant Protection News (ISSN 1816-8213). С 2004 г. ВИЗР публикует Приложения к журналу «Вестник защиты растений» в виде тематических сборников или монографий на русском и английском языках [ISSN 2310-0605 (Online), ISSN 1815-3682 (Print)] по биологическим проблемам, имеющим отношение к защите растений. С 2004 по 2016 гг. напечатано в типографии 11 выпусков Приложений, разосланных в основные библиотеки России и других стран. С 2013 г. по 2018 г. опубликовано 16 электронных выпусков Приложений, которые открыты для скачивания в Интернете. Среди авторов и редакторов монографий и сборников статей – около 40 ведущих ученых ВИЗР, ВИР, ВГУ, ВНИИКС, ВНИИСХМ, КубГУ, Института защиты растений Республики Беларусь.

В настоящее время для распространения опубликованной информации и повышения её доступности для мирового научного сообщества используются современные инструменты, включая размещение электронных версий выпусков и отдельных статей (файлы формата PDF) на сайте журнала (<http://vestnik.vizrsps.ru/ru/archive-ru/>), публикацию и архивирование работ в социальной сети учёных ResearchGate (<https://www.researchgate.net/>), которая служит для профессионального общения, обмена научным опытом и распространения знаний среди научных сотрудников всего мира. Международный ISBN номер присваивается по желанию авторов.

Как Вестник, так и Приложения к нему индексируются и архивируются на сайте <https://elibrary.ru> (Российский индекс научного цитирования, РИНЦ). Так, в настоящее время в карточке РИНЦ зарегистрировано более 70 выпусков Вестника, включивших около 1000 статей 850 авторов. Стабильно растет показатель журнала в рейтинге Science Index. С 2017 г. выпуски Вестника находятся в РИНЦ в открытом доступе. Только за этот год число просмотров статей выросло до 6108, а число скачиваний составило 82. В 2015 г. журнал изменил формат и стал печататься с более высоким полиграфическим качеством. В 2019 г. произошло объединение редколлегии и редсовета с существенным обновлением состава новой редакционной коллегии. Поставлена цель – достигнуть мирового уровня в своей области по качеству публикуемого научного материала.

И.Я.Гричанов

**IV ALL-RUSSIAN CONGRESS ON PLANT PROTECTION WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION “PHYTOSANITARY TECHNOLOGIES IN PROVIDING THE INDEPENDENCE AND COMPETITIVENESS OF THE AGROINDUSTRIAL COMPLEX OF RUSSIA”
to be held in Saint Petersburg on September 9-11, 2019**

The Congress will bring together more than 500 scientists and specialists from all over Russia to exchange knowledge and experience, to present the results of research and discuss innovations in the field of plant protection in agriculture and organic farming.

An exhibition called “Modern agricultural technologies in intensive crop production and organic farming” with the participation of leading manufacturers of plant protection products, agrochemicals, scientific equipment and other products for agriculture and research will be organized for the participants of the Congress.

Key Dates

Early bird registration **with abstract submission** is extended till 10.07.2019

Full key dates are available online (www.vizrcongress2019.ru/en/)

Saint Petersburg founded by Peter Great in 1703, can rightly be called one of the most beautiful cities in Europe, united in its appearance European and Russian, architectural tradition. It is one of the largest world centers of international cooperation, processing rich cultural and historical heritage. Saint Petersburg is Russia’s largest transport and logistic unit, the largest port on the Baltic Sea. Today as many as 100 historical places and 80 museums are open for visitors. Due to its strong scientific potential St. Petersburg is well-known on the map of Europe and recommended as proven comfortable place to discuss and formulate positions on scientific strategic issues.

Registration

	Early Registration (payment till 15.07.2019)	Late Registration (payment after 15.07.2019)
Foreign Participant	100 €	150 €
Foreign Student	70 €	100 €

All relevant information and registration is available at www.vizrcongress2019.ru/en/

ALL-RUSSIAN INSTITUTE OF PLANT PROTECTION TODAY

All-Russian Institute of Plant Protection (abbreviated in Russian as VIZR) was established on 25 June 1929 on the initiative of Academician N.I. Vavilov as the All-Union Research Institute for Plant Protection. Almost a century of the institute’s history is full of various events: scientific and practical achievements, relocations and reorganizations, and the hardship of the siege of Leningrad during the Great Patriotic War. Over the lifetime of the VIZR Institute a lot of researchers and scientists have been successfully working there. Dozens of former USSR specialists were trained in postgraduate studies at VIZR.

The Institute is a main organizer of Russian phytosanitary, it is also a center of scientific, innovative and educational plant protection activities in the Russian and international scientific area. VIZR provides the implementation of fundamental and applied research, postgraduate education in the field of phytosanitary, international business projects for the introduction of modern agricultural technologies in Russia and neighboring countries (Belarus, Kazakhstan and China).

The main goals and objectives of VIZR were defined by the Government 90 years ago and remain valid.

These are, first of all, breakthrough research in the field of plant protection, the establishment of new phytosanitary agricultural technologies to strengthen the food and

environmental safety of Russia, improving the quality of food and the competitiveness of domestic agricultural production. Addressing these challenges is necessary to ensure the technological independence of the country and improve the quality of life of the population.

The priority research areas of the Institute are:

The monitoring of harmful organisms and phytosanitary zoning of the territory of the Russian Federation using modern technologies; The development of ecological and genetic principles for the creation of resistant varieties and creation of technologies which could be used to prevent the mass spread of diseases, pests and weeds; The development of bioresources of beneficial organisms for the creation of new biological plant protection products and to develop the methods for managing populations of entomophages and entomopathogens in agroecosystems; The formation of a range of modern plant protection products, ensuring the phytosanitary stability of agroecosystems, and the creation of new birational rational plant protection chemicals; The development of a system for phytosanitary rehabilitation of agro-ecosystems based on integrated crop protection technologies.

ПОЛИТИКА ЖУРНАЛА «ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ»

Научно-теоретический рецензируемый журнал «Вестник защиты растений» публикует результаты оригинальных исследований, обзорные работы, дискуссионные заметки и хронику событий, имеющих отношение к защите растений. Журнал пропагандирует современные методы защиты растений, включая устойчивость сортов растений и биологические средства борьбы с вредными объектами; фитосанитарный мониторинг агроэкосистем; инновационные подходы, технологии, экономику и экологическую безопасность применения средств защиты растений.

Политика журнала нацелена на поддержание высоких стандартов качества научных публикаций и соблюдения принятых этических принципов. Усилия членов редакционной коллегии направлены на постоянное совершенствование своей работы, в связи с чем существующие правила подлежат уточнению и переработке с обязательным информированием заинтересованных лиц через вебсайт журнала. От редакторов и авторов ожидается соблюдение установленного порядка подачи и редакционной обработки рукописей, направленного на прозрачность (пока это не нарушает принцип анонимного рецензирования научных статей), эффективность и честность. В случае недостаточной научной ценности рукописи, несовместимости с этическими нормами, конфликта интересов или несоблюдения правил для авторов, отзыв/отклонение является

обязанностью редакторов. Решение проблем осуществляется путем переписки между редактором и автором через редакцию журнала. Редакционная коллегия действует твердо при выявлении фактов нарушения этических принципов в отношении как опубликованных, так и неопубликованных материалов, отклоняет рассматриваемый материал и проводит тщательное расследование инцидента. В случае необходимости отзыва статьи, данная процедура осуществляется как до, так и после выхода из печати, согласно алгоритму ретракции, предложенному Комитетом по публикационной этике COPE (http://publicationethics.org/files/retraction_guidelines.pdf).

Редакция заинтересована на расширение потенциальной аудитории в России и за рубежом, придерживается принципов открытости, доступности и распространения научных знаний, поддерживает публикацию материалов на английском – языке международного научного общения. Научные обсуждения и обмен мнениями приветствуются на страницах журнала, включая опровержения, исправления и комментарии к опубликованным статьям, а также ответы на комментарии и рецензии на работы, вышедшие из печати. Редакция считает, что лучше сообщать об ошибках, выявленных в опубликованных работах, чем игнорировать их.

«PLANT PROTECTION NEWS»: THE JOURNAL POLICY

«Plant Protection News» is a scientific peer-reviewed journal which publishes results of original research, reviews, discussion notes and chronicles related to plant protection. The Journal promotes modern methods of plant protection, including resistant plant varieties and biological means of pest control; phytosanitary monitoring of agro-ecosystems; innovative approaches, technologies, economics and ecological safety of plant protection applications.

The journal policy is aimed at support of high quality standard of scientific publications and strict adherence to the accepted ethical principles. The efforts of Editorial Board members are targeted at constant perfection of the work and the existing regulations are subject to specification and editing with mandatory informing of the interested persons via the journal website.

It is expected from the editors and the authors to respect established procedures of manuscript submission and processing, aiming at transparency (unless it violates the principle of anonymous reviewing of the papers), effectiveness and honesty. In case of insufficient scientific value, any violation of journal policies, incompatibility with ethical standards, conflict of interests and when guides for authors are

not adhered, it is of competence of both editors and authors to decline/withdraw a manuscript. Any problems are due to resolution via correspondence between the editor and the author via the Editorial Office. The Editorial Board acts firmly in case of revealing the facts of the ethical code violation by the authors both for published and unpublished materials. In such cases, the editorial office declines the material and provides proper investigation of the incident. When article retraction (withdrawal) is necessary, it is performed both before and after the paper is printed in accordance with the algorithm offered by the Committee on Publication Ethics COPE (http://publicationethics.org/files/retraction_guidelines.pdf).

The Editorial Office is interested in expansion of its potential audience both in Russia and abroad, follows the principles of transparency, availability and dissemination of scientific knowledge, supports publication in English – the language of international scientific communication.

Scientific discussions and exchange of opinions are welcome on the journal pages, including rebuttals, corrections and comments to the published articles as well as responses to the comments and post-reviews. The Editorial Office suggests it is better to report the mistakes rather than ignore them.

ПОРЯДОК РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ И ПРИНЯТИЯ СТАТЕЙ К ПЕЧАТИ

Для повышения качества экспертизы рукописей их оценка в журнале «Вестник защиты растений» проводится в режиме «двойного слепого» (обоюдно анонимного) рецензирования, когда рецензенту не известны личности авторов, а авторам – личности рецензентов.

При получении поданной рукописи, редактор проводит её оценку и решает, отклонить её или допустить к рецензированию. **Подтверждение отсутствия нарушений этических принципов и согласие авторов с действующим порядком рецензирования** в сопроводительном письме служит одним из необходимых оснований для принятия поданной рукописи в работу. В последнем случае потенциальным рецензентам, экспертам в соответствующих областях знаний, направляется запрос на проведение экспертизы и, в случае согласия, электронные файлы статьи (полный набор материалов, за исключением сведений об авторах) и анкета рецензента с инструкцией.

Стандартный срок проведения экспертизы составляет 15 дней и может быть изменён по согласованию с редакцией. Файл рецензии с подписью рецензента хранится в архиве редакции; при отправке рецензии автору информация о рецензенте удаляется.

Рецензии на статьи, поступившие от авторов этих статей, не рассматриваются. Хотя данный нетребовательный подход, до сих пор практикуемый некоторыми отечественными изданиями, значительно облегчает работу авторов и редакторов, следует понимать, что он не может не вести к закономерному снижению качества публикуемого материала, поскольку авторы, заинтересованные в положительном исходе экспертизы, обычно не обращаются к специалистам, которые могут дать негативную оценку их работы, а принцип анонимности в такой ситуации не может быть соблюден.

Общение авторов с рецензентами осуществляется исключительно через редакцию. Если при ознакомлении с текстами статей и ответов на замечания рецензентам становятся очевидны личности авторов, и наоборот, авторам становятся известны личности экспертов, подготовивших рецензии, а также во всех иных случаях нарушения анонимности, сторонам (авторам и рецензентам) следует избегать прямого общения на тему рассматриваемой рукописи и отзывов на неё.

В качестве экспертов приглашаются специалисты, не имеющие очевидных конфликтов интересов с авторами рассматриваемой рукописи и не состоящие в трудовых отношениях с теми же организациями, что и авторы.

Рецензия должна отвечать на следующие вопросы:

- 1) Соответствует ли статья тематике журнала;
- 2) Выполнено ли исследование на достаточно высоком научно-методическом уровне;
- 3) Достаточно ли текст рукописи чёткий, подробный и стилистически выдержанный;
- 4) Соблюдены ли в статье требования к оформлению текста;
- 5) Достаточно ли информативность и качество оформления иллюстративного материала.

Ответственность за соответствие формата рукописи требованиям оформления, принятым журналом, возлагается на авторов. При этом допускается первичная подача предварительной версии статьи без соблюдения специального форматирования, требуемого журналом (опция «Your

paper – your way»), о чём необходимо сообщить в сопроводительном письме. В этом случае авторам будет предоставлена возможность отформатировать рукопись после того, как она будет принята к печати на основании результатов экспертизы по существу.

На основании проведенной экспертизы, рецензент даёт заключение: принять рукопись, отказать или рекомендовать исправления. Редакцией принята одна из основных схем заключения рецензента, используемых международными журналами мирового уровня, но с небольшой модификацией. Доступны четыре возможные градации:

1) Принять «как есть», что аналогично **«accept as is»** англоязычных журналов – данная ситуация наиболее редко встречается в практике работы научных журналов, где качеству публикаций уделяется должное внимание и требования к обязательному рецензированию работ соблюдаются неукоснительно, и наоборот, часто наблюдается, если приветствуются «рецензии от авторов» (см. выше);

2) Принять после незначительной доработки (повторная экспертиза не требуется) – данная позиция представляет собой модификацию варианта **«minor revision»**, в которой решение о необходимости повторной экспертизы остаётся на усмотрение редакции, в отличие от большинства других изданий, где статья, подаваемая после небольшой коррекции с учётом замечаний рецензентов, обязательно отправляется на повторную проверку рецензентами;

3) Принять после значительной доработки (обязательна повторная экспертиза), или **«major revision»** – в данном случае авторы обязаны предоставить не только исправленную рукопись, но и по пунктам описать, какие исправления внесены в связи с замечаниями, а также дать обоснованный ответ при несогласии с конкретным замечанием;

4) Отказать (**«reject»**) – как и во всех перечисленных выше случаях, необходимо обоснование, которое позволит редакции оценить объективность предлагаемого решения, а авторам – учесть недочёты в своей дальнейшей работе.

На основании полученных рецензий, редактор принимает решение о том, чтобы принять статью к печати, отказать или вернуть на доработку. В последнем случае автору, ответственному за переписку (подачу статьи), следует заново подать исправленную рукопись с указанием каждого исправления в соответствии с замечаниями рецензентов, а также с объяснением каждого случая, когда предложенное исправление не было сделано. При несогласии редактора с содержанием полученных заключений (или при наличии убедительных возражений со стороны автора), рукопись может быть направлена на дополнительную экспертизу другим рецензентам. При наличии замечаний экспертов (редактора и/или рецензентов) в печать принимаются только доработанные и отредактированные рукописи.

Общепринято использовать в редакторской работе не менее двух независимых рецензий на каждую статью, данное правило соблюдается редакцией журнала. Каждый случай рассматривается и обсуждается редакционной коллегией на заседаниях, проводимых ежеквартально.

После принятия рукописи к печати заключается **лицензионный договор** (см. правила для авторов). Подписанные со своей стороны (от имени всех соавторов) две копии договора ответственный за переписку автор передает в редакцию (один из которых возвращается автору), после чего статья может быть опубликована.

Приложение 1¹

Рецензия на рукопись статьи рег. № _____ «_____»,
направленной для публикации в журнал «Вестник защиты растений»

№	Критерий	Ответ*	Примечания
I Качество исследования			
1	Тема рукописи соответствует тематике журнала	ДА/НЕТ	
2	Рассматриваемая проблема актуальна	ДА/НЕТ	
3	Материал характеризуется научной новизной, некорректные заимствования отсутствуют	ДА/НЕТ	
4	Использованы современные методы, выбранные подходы соответствуют задачам исследования	ДА/НЕТ	
5	Выводы не вызывают сомнений	ДА/НЕТ	
II Качество изложения			
6	Название рукописи соответствует ее содержанию	ДА/НЕТ	
7	Постановка цели убедительна	ДА/НЕТ	
8	Методы описаны достаточно подробно и ясно	ДА/НЕТ	
9	Результаты изложены достаточно подробно и ясно	ДА/НЕТ	
10	Обсуждение адекватно результатам	ДА/НЕТ	
III Иллюстративный материал и библиография			
11	Таблицы информативны и соответствуют содержанию рукописи**	ДА/НЕТ	
12	Рисунки наглядны и информативны**	ДА/НЕТ	
13	Подписи к рисункам достаточно полно отражают их содержание**	ДА/НЕТ	
14	Научная литература процитирована в достаточном объеме	ДА/НЕТ	
15	Ссылки на литературу соответствуют библиографическому списку	ДА/НЕТ	
IV Формат рукописи (см. http://vestnik.vizrspb.ru/guides-for-authors-ru.html)			
16	Объем рукописи соответствует типу статьи	ДА/НЕТ	
17	Объем аннотации соответствует типу статьи и отражает содержание статьи	ДА/НЕТ	
18	Структура соответствует типу статьи	ДА/НЕТ	
19	Текст не содержит грубых стилистических и грамматических ошибок	ДА/НЕТ	
20	Формат библиографических ссылок соблюден	ДА/НЕТ	

*стереть ненужное. В случае сомнений оставить «ДА/НЕТ», написать комментарий

**если таблицы и/или иллюстрации отсутствуют и в них нет надобности, необходимо в графе «Ответ» оставить «ДА».

¹ Анкета рецензента с инструкцией доступны для скачивания онлайн:
<http://vestnik.vizrspb.ru/ru/reviewing-process-ru.html>

REVIEWING PROCESS AND ACCEPTING ARTICLES

To increase the quality of manuscript expertise, their evaluation in the journal «Plant Protection News» is performed using the **double blind review** when the reviewer personality is hidden from the authors and vice versa, reviewers are not informed about the authors' names.

Upon receiving a submitted manuscript, the editor makes a decision either to decline or admit it to review. Confirmation of absence of ethical principles and agreement of the authors with the actual order of the reviewing process in the cover letter is among the basic grounds for admission of the paper for editorial processing. In the latter case, abstract of the manuscript is mailed to the potential reviewers who are experts in the respective fields. When agreed, the reviewers receive the complete set materials for reviewing (with exception of the information about the authors) and the reviewer's form alongside with the instruction. Standard timeframe for reviewing is 15 days which can be changed upon agreement with the Editorial Office.

Reviews of the articles provided by the authors are not considered. This undemanding approach, still exploited by some publishers in our country, greatly alleviates the work of both authors and editors. However, it must be understood that it only leads to expectable decrease of the published material quality. The authors, interested in positive results of the expertise, are unlikely to inquire at specialists who may give a negative evaluation, while the principle of anonymous reviewing cannot be adhered.

Authors and reviewers communicate solely via the Editorial Office. If the personalities of the authors are obvious through the examination of texts of manuscripts and response to the remarks, and vice versa, reviewers' names are disclosed to the authors (and in other cases of anonymous reviewing principle violation), the sides (authors and reviewers) should exclude direct communication concerning the manuscript and the review.

Experts are chosen among the specialists with no obvious conflict of interests with the authors of the revised manuscript and not working in the same organizations as the authors.

The review should answer the following questions:

- 1) Does the paper correspond to the scope of the journal
- 2) Is the scientific and methodological quality of the paper of sufficient level
- 3) Is the text clear and comprehensive and the scientific style is respected
- 4) Are the guides for authors adhered
- 5) Is the content and format of the illustrative material of sufficient quality

Conformity of the manuscript formatting with the manuscript organization instructions is the responsibility of the authors. Meanwhile, primary submission of a preliminary version of the paper devoid of special formatting as demanded

by the journal («Your paper – your way»), which should be promptly acknowledged in the cover letter. In this case, authors will be allowed to format the manuscript after it will be accepted basing upon evaluation of the content.

Basing upon the expert evaluation, the reviewer makes a recommendation as to reject, accept or revise the manuscript. One of the most popular schemes of review decision is accepted by the Editorial Office following the majority of international scientific editions with a slight modification. Four grades are available:

1) «**accept as is**» suggests that no changes to the submitted paper are needed, which is the most infrequent situation in the practice of scientific journals which are careful in publication quality and strictly follow mandatory reviewing requirements and, vice versa, is most often observed when «reviews from authors» are welcomed (see above);

2) «**minor revision (no further reviewing needed)**» is the case when improvement of the manuscript as proposed by the reviewer (and described by the author in response to reviewers' comments) can be estimated by the Editorial Office without sending it to the second round of evaluation (in contrast to the other journals where minor revision usually requires additional round of reviewing);

3) «**major revision**» requires mandatory expert's re-evaluation of the corrected manuscript and authors' response to reviewers' comments (including step-by-step description of corrections or substantiation of disagreement with the comments);

4) «**reject**» must be properly grounded so that the Editorial Office is able to estimate the correctness of this decision while the authors perceive an insight into major flaws to be considered in their further work.

Basing upon the reviews obtained, the editor makes a decision whether to accept, reject or revise the paper. In the latter case, the authors are expected to resubmit the improved manuscript alongside with the response to reviewers' comments, indicating each correction made according to the comments and explaining each case when the suggested correction was not made. In a case when the editor finds the review unsatisfactory, another expert is to be found for reviewing. Only corrected and edited (according to editors'/reviewers' comments, if present) manuscripts are being accepted.

The common practice is the use of at least two independent reviews per article and this is maintained by the Editorial Office. Each case is being considered and discussed by the Editorial Board during its meetings on a quarterly basis.

After the manuscript is accepted, a **copyright transfer agreement** (see guides for authors) is signed by the corresponding author on behalf of all co-authors in two copies (one is returned to the author) and the paper can be published.

Appendix 1¹

Review of the manuscript under registration # _____ titled _____,
submitted to the journal «Plant Protection News»

#	Criterion	Reply*	Notes
I	Quality of the research		
1	Topic corresponds to the journal's scope	YES/NO	
2	The problem is actual	YES/NO	
3	The material is of scientific novelty	YES/NO	
4	Modern methods are used and the approaches answer the research tasks	YES/NO	
5	No doubt about conclusions	YES/NO	
II	Quality of presentation		
6	Title corresponds to content	YES/NO	
7	Chosen goal is convincing	YES/NO	
8	Methods are detailed and clear	YES/NO	
9	Results are detailed and clear	YES/NO	
10	Discussion is adequate to Results	YES/NO	
III	Illustrative material and bibliography		
11	Tables are informative and correspond to the content**	YES/NO	
12	Figures are illustrative and informative**	YES/NO	
13	Figure legends are sufficient**	YES/NO	
14	Scientific literature is cited sufficiently	YES/NO	
15	Referenced papers correspond to the Referece list	YES/NO	
IV	Manuscript organization (see http://vestnik.vizrspb.ru/guides-for-authors.html)		
16	Manuscript volume matches the paper type	YES/NO	
17	Abstract size matches the paper type and reflects its content	YES/NO	
18	Structure of the paper corresponds to its type	YES/NO	
19	Text is devoid of gross stylistic and grammatical errors	YES/NO	
20	Reference style is respected	YES/NO	

*delete the unnecessary

**if tables/figures are absent and there is no need in it, use “YES” as the reply.

¹ The reviewing form and instruction are available online at <http://vestnik.vizrspb.ru/ru/reviewing-process.html>

ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ

Предлагаемое руководство представляет собой набор этических правил, обязательных для редакторов журнала «Вестник защиты растений», авторов и рецензентов. Данное дополнение к обновлённой политике журнала – не модный тренд и не столько следование формальным требованиям, сколько осознание необходимости создания предпосылок для успешной работы по совершенствованию публикуемого контента, к пониманию чего постепенно приходят многие издания.

Основная цель редакционной коллегии заключается в удовлетворении интересов читателей и авторов и соблюдения их прав. Редакционная коллегия отвечает за научное качество публикуемых исследований и за обработку материала, независимую от коммерческих интересов.

Подавая рукопись, авторы подтверждают, что подаваемые материалы получены авторами, представляют собой оригинальное исследование (для обзоров – содержат оригинальный анализ литературных данных); в рукописи отсутствуют некорректные заимствования любого рода (см. далее); авторство всех участников работы должным образом отражено; работа не опубликована и не подана на рассмотрение где-либо ещё.

Решение редакционной коллегии о публикации или отклонении статьи основывается исключительно на экспертном заключении о качестве научного материала и его соответствии тематике издания. Политика журнала препятствует возможности коммерческого и иного неэтического влияния (некоммерческий конфликт интересов и т.п.) на решение рецензентов и редакторов.

Допуская рукопись к редакционной обработке, редактор подтверждает, что она станет предметом

рецензирования и что рукописи, не прошедшие рецензирование, публиковаться не будут. Рукописи, получившие отрицательную экспертную оценку, могут быть дополнительно рассмотрены редакционной коллегией с предложением кардинальных улучшений и отправлены на повторное рецензирование с привлечением исходных и новых рецензентов.

Рецензенты выбираются с целью получения качественной экспертной оценки научного материала. Редакционная коллегия назначает рецензентов, не преследуя личных интересов. В случае конфликта интересов эксперт обязан уведомить редакцию и отказаться от рецензирования.

Редакция следит за соблюдением защиты интеллектуальной собственности и требует, чтобы авторы и рецензенты проверяли рукописи на плагиат и фальсификацию и сообщали о любых нарушениях этических принципов. При необходимости редакционная коллегия оказывает поддержку авторам, чьи права собственности были нарушены. Рецензенты также должны проверять рукописи на соответствие международным принципам научного сообщества.

Примечание

Проблемы некорректных публикационных стратегий в последнее время широко обсуждаются в научном сообществе. При этом внимание общественности и СМИ приковано к материалам диссертационных работ, особенно когда в качестве фигурантов выступают высокопоставленные чиновники (в связи с распространённой практикой фальсификаций). Во всех обсуждениях подобного рода проблема плагиата в научных статьях занимает второе место, тем не менее, опубликовано достаточное количество работ, касающихся данного вопроса. На заключительном заседании конференции «Проблемы качества научной работы и академический плагиат», состоявшейся в Российском Государственном Гуманитарном Университете (Москва, 26 сентября 2018 г.), принята резолюция, описывающая проблемы, сложившиеся в отечественной науке в связи распространённостью академического плагиата, и возможные направления противодействия этому явлению. В ней, в частности, сказано (цитируется по <https://trv-science.ru/2018/10/09/final-dos-academ-plagiarism/>):

«В практике диссертационных советов имеют место случаи искаженного понимания “плагиата в диссертации”, не соответствующего закону и тем целям, которые преследовал законодатель, устанавливая, что диссертации как научно-квалификационные работы должны удовлетворять определенным критериям. Приводимые ниже пояснения и примеры призваны разъяснить диссертационным советам, редакциям журналов и академическому сообществу наиболее типичные нарушения, с тем чтобы повысить в дальнейшем уровень контроля над соблюдением академической этики.

Мы подчеркиваем, что академический (научный) плагиат по своей сути не тождественен плагиату как уголовно наказуемому деянию, ответственность за которое установлена ст. 146 УК РФ, или плагиату как нарушению авторских прав, ответственность за которое установлена положениями гражданского законодательства, и совпадает с этими понятиями лишь отчасти. Так, установление факта плагиата в первых двух случаях относится к исключительной компетенции суда, а наличие академического плагиата определяется исходя из логически непротиворечивой аргументации и здравого смысла в рамках открытой публичной дискуссии, как это принято в академическом сообществе»

(конец цитаты).

Итоговый документ принят консенсусом при участии членов оргкомитета (А.Б. Безбородов, О.В. Павленко, С.Н. Зенкин, А.В. Заякин, Л.Л. Батова, Н.А. Борисов, Е.Е. Жигарина, Г.И. Зверева, А.П. Логунов) и предложен к обсуждению российскому научному сообществу¹. В нём дан ряд важных определений: «академического плагиата» (см. выше), «научного подлога» или «фальсификации» (п. 1.2 цитируемого документа) и «автоплагиата»² (п. 1.5), рассмотрено «копирование ... чужого обзора литерату-

¹ См., в частности, <https://trv-science.ru/2018/11/06/k-itogovomu-dokumentu-conferencii-26-sep-v-rsuh/>; <https://trv-science.ru/2019/03/02/otvet-v-troickij-variant/>

² См. также «Руководство по работе с повторным использованием текста (автоплагиатом)» в журнале «Научный редактор и издатель» за 2017 г., <https://doi.org/10.24069/2542-0267-2017-2-4-113-115/>

ры» (п. 1.1.6) и другие виды некорректных заимствований. Сделано важное заключение о том, что «включение текста опубликованной автором научной статьи (в том числе в соавторстве) в собственную диссертацию или монографию автора не может считаться автоплагиатом» (п. 1.5.1).

К сожалению, ряд вопросов остаётся за рамками цитируемого документа, в частности, «плагиат идей и научных результатов без прямого плагиата текстов», который «более сложен для обнаружения» (п. 1.1.4). Указано только, что для установления такого «неявного» плагиата «необходимо заключение эксперта — профильного специалиста, имеющего соответствующий уровень образования и квалификации» (п. 1.1.5). Кроме того, важно отметить, что отсутствие четких инструментальных критериев оценки оригинальности текста создает проблемы для рецензента и редактора. Так, количественные индикаторы заимствования не имеют широкого применения для научных статей (в отличие от выпускных квалификационных и диссертационных работ), понятие «научная публикация» несколько

размыто¹, а представления о том, как должен быть отражен вклад участников работы в виде соавторства, варьируют у разных научных школ. Всё это вызывает определённые сложности при определении границ «некорректных публикационных стратегий». Например, процитированный выше документ рассматривает «сомнительное соавторство» исключительно как републикацию текста в разном составе соавторов, понимаемых как авторы текста научной работы. Здесь, однако, следует учитывать, что вклад соавторов научной публикации не ограничивается написанием «нового текста», в связи с чем возможно нарушение интересов и прав исполнителей исследования, которые не производили текст, но внесли другой вклад в создание материала, послужившего основой рукописи.

¹ Не случайно в предисловии к сборникам тезисов докладов крупных международных мероприятий (например, Annual Meeting of Society of Invertebrate Pathology) иногда указывают, что данные материалы не могут рассматриваться как научные публикации, а их цитирование требует согласования с авторами.

Редакция журнала «Вестник защиты растений» придерживается мнения о недопустимости нарушения существующих этических принципов (включая академический плагиат и автоплагиат), необходимости уважения чужого авторства, обязательности надлежащего оформления материалов при заимствованиях.

CODE OF ETHICS

The given regulations are a set of ethical rules to be followed by the editors, the authors and the reviewers during their work. This addition to the renewed policy of the journal is not just a modern trend and simple adherence to the formal requirements, but rather an understanding of the necessity to create the prerequisites for successful work aimed at perfection for the published content and many publishers to such a conclusion.

The editorial office commits itself to meet the needs of readers and authors respecting their rights and legitimate interests. The editorial office is responsible for the scientific quality of published research and for processing of the materials made independently from commercial interests.

By submitting a manuscript, the authors confirm that the materials presented are obtained by the authors, it is an original research (while the review papers contain original analysis of published data), unauthorized appropriations of text and ideas are absent; the authorship of all contributors is accordingly presented and the work has not been published or submitted for publication elsewhere.

The decision of the editorial office on whether to publish an article or decline it is based solely on the quality of the submitted scientific material. The journal policy rules out the possibility of commercially-based influence on the results of the expert judgment and disclosure of the decision on the article acceptance/rejection.

By admitting the manuscript for processing, the editors confirm that it will be subjected to reviewing and that the manuscripts which were not reviewed will not be published.

The manuscripts receiving negative evaluations may be additionally considered by the Editorial Board offering drastic improvements and sent to secondary reviewing involving the initial and new experts.

The editorial office invites the experts in the respective fields of research for the manuscript reviewing process. The reviewers are selected to obtain high quality expert evaluation of the scientific material. The editorial office assigns reviewers with no personal interest in publishing or declining of a certain article. In case of the conflict of interests, the expert is to notify the editorial office and refuse to review.

The editorial office respects the protection of intellectual property and demands that both the authors and the reviewers check the submitted/reviewed manuscripts for plagiarism and false data, as well as notify about any violations of the ethical code by the authors. In case of necessity, the editorial office renders assistance to authors whose property rights are infringed. Reviewers also have to check whether the data described in the submitted articles were obtained as a result of the research conducted in accordance with the International scientific society principles.

The Editorial Office of the journal «Plant Protection News» supports the opinion that the violation of existing ethical code (including academic plagiarism and self-plagiarism) is unacceptable, the authorship must be respected and the credits must be acknowledged properly.

GUIDES FOR AUTHORS

“Plant Protection News” publishes results of original research as full-text articles and short reports, reviews as full-text and mini-reviews, discussion notes (comments to articles and responses to comments) and chronicles related to plant protection (i.e. announcements of forthcoming and reports on past events, in memoriam, obituaries etc.).

The Journal promotes modern methods of plant protection, including development of resistant plant varieties and biological means of pest control; phytosanitary monitoring of agroecosystems; innovative approaches, technologies, economics and ecological safety of plant protection applications.

Four issues are published per year. Electronic versions of papers are openly published as PDF files at the Journal’s website. Papers are issued in Russian or English. The Editorial Office preserves the right to translate Russian papers into English (upon discussion of the final version with the authors). Instructions for manuscript organization in English are given below. Instructions for manuscripts in Russian can be found in the Russian version of the Guides for Authors.

The manuscript is submitted as an electronic document (file) in the format, compatible with MS Office (Word). The preferable formats are DOC or Rich Text Format (RTF), however, we also accept other formats if their content is not distorted. The files with figures (see below) and information about authors (including affiliation with address, contact phone number and corresponding author emails). The files with manuscripts and other data should be attached to an e-mail sent to vestnik@vizr.spb.ru. The file names should contain only the Latin letters, Arabic numbers, the words should be separated with “_”. The first word should be the surname of the first author of the paper, we also recommend to use the words and abbreviations: “text” (for the files with the manuscript text), “authors” (for the file with the information about authors), “figure1” (for the files with the figures), “YPYW” (for the manuscripts in the “Your paper – your way” format), “resubmit1” (for the manuscript resubmission, corrected according to the reviewers’ and editor’s comments). In the email body the corresponding author and the manuscript type (full-text review, mini-review, full-text article, short communication, comment etc.), the format type (according to the journal rules or «your paper – your way» option) should

be provided. The email body should contain the agreement of noted all- co-authors to publish the material., The email template is accessible for download on the journal website as plain text (attachment 1). The printed version of the manuscript should be handled or mailed to the Editorial Office. The further work (review, the notifications on the Editor board decisions, authorship transfer, the scientific and technical edits, layout adjustments by the editors and authors etc) will be conducted by the emails with the corresponding author.

In case of the manuscript acceptance, the authors transfer the copyright to reproduce, distribute and make publicly available the paper to the publisher of the Journal “Plant Protection News” by setting up an Agreement (the full text is available for download from the Journal website as DOCX, DOC и PDF). According to this, the manuscript or its parts cannot be published elsewhere in any language without a written permission of the copyright holder, which is the All-Russian Institute of Plant Protection.

Author(s) guarantee(s) that the manuscript or its parts were not previously published, plagiarism and other forms of unrighteous usage of data are absent and all the permissions for data and image usage are present. Authors are fully responsible for accuracy of facts, citations, statistical data etc.

Manuscripts violating these guides will not be considered. The authors can provide the preliminary version of the paper without special formatting, requested by the journal (option «Your paper – your way»), and this should be mentioned in the cover letter. In this case, the authors will be allowed to format the title page and the bibliography after the paper is accepted for publication.

Charges for article processing and publication are not incurred to the authors. The manuscripts are not returned.

For any requests, please feel free to inquire at: vestnik@vizr.spb.ru; ytokarev@vizr.spb.ru

Instructions for manuscript organization

The manuscript size depends upon the article type (Table 1). Short communication, as well as other types or articles, is a complete work and not a preliminary data of an unaccomplished study. The text should be formatted uniformly considering the provided guidelines without using the multiple spaces and tabulations as paragraph indents and within the paragraphs.

The content of the title page does not require the special formatting, which copies the style of the journal printed version. The text in the title page should be provided as a plain text typed in lower case, using the standard font without the paragraph indents using the alignment to the left edge.

First paragraph contains the category of the paper corresponding to the classification of the OECD+Web of Science (Appendix 2, Table 2), for example: : «4.01+MU».

Second paragraph contains the paper type (Appendix 2, Table 1).

Third paragraph contains the paper title in the lower case. Upper case is used to begin sentence, names, for abbreviations etc. Latin names are given without authors unless this is needed to avoid misunderstanding.

Fourth paragraph includes initials and surnames of authors separated by comma.

Fifth paragraph includes authors’ affiliation(s), city and country. If there are several affiliations, each of them is placed on the separate line, and they are indicated by superscript Arabic numbers. If there are two or more authors, the corresponding author name is followed by the “*”.

Sixth paragraph includes plain text **Abstract** without title, paragraphs, citations, special symbols and formatting. This is to deliver the main content of the article in a short form to be understood without reading the main text. Abstract size depends upon the article type (Table 1). Numerals are given as numbers (if not the first word of the sentence). Abbreviations need to be deciphered upon first mentioning, with the exception of those widely accepted (WTO, DNA, PCR, RNA, FAO etc.) Latin taxon names are given in full.

Seventh paragraph contains 4 to 8 keywords in the singular form if possible, separated by comma, without prepositions and conjunctions. Keywords should reflect the article content but not repeat its title.

Main text is split in chapters with titles in bold as separate lines, centered. Structure of the full-text article includes the following necessary chapters: **Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion**. Short communication has the same structure but **Results and Discussion are combined within the single chapter**. Reviews contain chapters according to the text content, or no chapters.

Text formatting is as follows. The font is Times New Roman for main text, tables and figure legends, Arial is for figures, Symbol is for the Greek symbols. Font size is 12 in main text, 9 in tables, figure legends and references. The line space is single, page orientation is vertical (portrait), all page margins are 2 cm, no styles for symbol formatting are applied. Decimal part is separated by dot, “%” and “°» symbols are separated by space from the number., for example. «24 °C». The margins of the numeric ranges are separated by the en dash without spaces (“34–51”), abbreviations of the time units («h», «min», «sec») are not followed by the full stop, unless at the end of the sentence.

Equations are designed in a standard equation editor of MS Office Word or provided as black and white raster images with resolution of 600 dpi or higher.

Latin taxa names are given according to the modern nomenclature, species names are given in full at first mentioning in main text with authority, as well as in full but without authority at first mentioning in the annotations, tables and legends to figures; the genus epithet is abbreviated if the species name is mentioned further, The species and generic epithets should be in italic.

Tables are placed in the paper text, directly after the paragraph with the first link for the table. Figures are provided as the separate files. The copy of the illustration is placed in the text with the corresponding legend after paragraph containing first mentioning of the unit. Figure and table sizes are 18.1 cm. Raster images (digital images etc.) are supplied as separate TIFF or maximal quality JPEG files in grayscale with resolution of 300 dpi or higher. Diagrams and graphs are built without color elements using standard means compatible with MS Office Excel, they are provided in two formats: (1) as raster image (see above), (2) as the original XLS file, available for editing. Figures and tables should not copy each other's content.

References are given in round parenthesis, the author names are separated with comma. For all the references with the author names (editors), the author surname and the year of publishing are provided, for two authors both surnames are listed, separated with the comma, for three and more authors the first author surname is followed by the “et al.”. For the publications and electronic resources without authors (editors) the full title is provided in case if it consists of less than five words, otherwise 1-4 first words of the title are provided followed by the three dots. It is allowed to use the authority or the source name as the sentence member using the year of the issue in the parenthesis. The examples: «The research has shown that (Whitlock, Johnston, 1990)»; «According to Weiser (1972),». For the regulatory documents the type and number of the document are provided: «GOST 21507-2013; SNiP II-108-78; TU 9291-007-00479563-98». If several works are cited, they are placed in the order of issue year, the references in Cyrillic are followed by the references in latin alphabet, separated by the semicolon. In case if the author and

date issue are identical in two references, they are assigned the serial letter indexes of the corresponding alphabet (Pavlyushin, 2017a, 2017b; Afanasenko et al., 1999b).

The bibliographical references for the papers in journal and non-periodical issues, books, book chapters, PhD thesis and PhD thesis synopses, electronic issues, patents, regulatory documents and referential materials are allowed. It is possible to cite the abstracts of major international conferences and meetings, if absolutely necessary. The justification and agreement of the Editorial board will be needed for such references. In special cases, it is also possible to cite the author's unpublished data and personal communications with the colleagues. The references for the materials with the restricted access, such as scientific institutional reports, not accessible online, are not permitted.

References chapter follows the main text. All references should be provided in the same style and in alphabetical order. The author's surname is followed by the initials without full stops and spaces. If there are two or more authors, their names are separated with comma. If there are more than five authors, “et al” is placed after the fifth author without the full stop. The author's full names are followed by the issue date in the round parentheses, the publication name, full stop, *issue name in italics*. The names of the journals in the language based on the Latin alphabet (English, German, French, Spanish etc.) are abbreviated in line with the National Library of Medicine (<https://www.nlm.nih.gov/tsd/cataloging/constructitleabbrev.html>), and they are not followed by the full stops. Next the following numbers and symbols are placed: volume number, issue number in round parenthesis (if present), column, the first page number, the en dash (not be confused with the hyphen), the last page number. In case if the issues have the double numbering, the continues numbering is placed in the parenthesis, e.g. “4(98)”. If there is a numeric identifier of the object (DOI), it is necessary to place it at the end of the corresponding references in the following format «[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4\(98\)-5-12](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4(98)-5-12)», in this case the full stop is placed after the number of the last page; if the last page number is followed by the original language indication in the round parenthesis: “(In Chinese)”, the full stopes are omitted, the right parenthesis is separated from the DOI link with the space.

In case of the book citation, the author, year, title, the city and place of issues are provided (separated by the column), the number of pages («28 p.»). In case of the book chapter citation, after the authors' full names, year and chapter title the indicator «In:» is placed, which is followed by the full names of the Editors with the indicator «(ed)» or «(eds)» for the singular and plural forms respectively, the book title, the place of publishing, publisher and the page range. If there are no parentheses, the reference elements are separated from each other by the full stop.

Other types of references are formed in the similar manner (see below). In case of the PhD thesis citations, there should be indicator «PhD thesis», followed by the three dots and the field of science in which the PhD degree has been granted. This part of the citation is in italics, and followed by the full stop, the city of the institution, where the study was completed, the full stop and number of pages.

Appendix 1**Cover letter form**

Dear Editors,
Please, consider this manuscript for the publication in the “Plant Protection News”.

1) The title of the paper (insert):
2) Authors (insert, mark the corresponding author with «*»):

*corresponding author (in case when there are two or more authors)

3) Paper type (delete the inapplicable):

Full-text review

Mini-review

Full-text article

Short report

Chronicle

4) Formatting:

Format fits the journal requirements

Preliminary version («your paper – your way» option)

This manuscript represents the original study (for reviews – contains the original analysis of the literature). The authors guarantee the absence of the plagiarism, incorrect citations and other violations of the ethical principles, accepted by the Editor Board. The authors agree with the review procedures and paper editing accepted by the Editor board and provided on the journal website.

The authors confide the corresponding author the correspondence with the Editors, manuscript formatting and license agreement procedure (in case if the manuscript is accepted for press).

Date

Corresponding author full name

Affiliation

Position

Appendix 2**Table 1.** Size limitations for different article types

Article type	Maximal number of pages of text*	Maximal number of illustrative units (tables & figures)**	Abstract volume (word count)
Full-text review	20	10	150-250
Mini-review	8	4	100-150
Full-text article	12	6	150-250
Short communication	4	2	100-150
Discussion note	2	1	No
Chronicle	2	1	No

*pages of RTF document formatted according to the Instructions

**One unit occupies 0.5 pages

Table 2. Main codes of OECD+Web of Science classification as compared to the disciplines of the Higher Attestation Committee

Higher Attestation Committee discipline	OECD+WoS codes
03.02.05 Entomology	1.06+IY (Entomology)
03.02.12 Mycology	1.06+RQ (Mycology)
06.01.01 General agronomy, plant growing	4.01+AM (Agronomy)
06.01.04 Agrochemistry	4.01+XE (Soil Science)
06.01.05 Selection and seed production of agricultural crops	4.01+AM (Agronomy)
06.01.06 Grassland agriculture and medicinal essential oil crops	4.01+AM (Agronomy)
06.01.07 Plant protection	4.01+AM (Agronomy)
06.01.08 Horticulture and viticulture	4.01+MU (Horticulture)
06.01.09 Vegetable growing	4.01+MU (Horticulture)

Appendix 3**Samples of References**Articles in journals:

Bezoussenko GV, Dolgikh VV, Seliverstova EV, Semenov PB et al (2007) Analogs of the Golgi complex in microsporidia: structure and vesicular mechanisms of function. *J Cell Sci* 120(7):1288–1298. <http://www.doi.org/10.1242/jcs.03402>

Vasyukova NI, Ozeretskovskaya OL, Chalenko GI, Gerasimova NG et al (2010) [Immunizing activity of chitosan derivatives with salicylic acid and its fragments]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* 46(3):379–384 (In Russian)

Articles in journals with continuous numbering of issues:

Babich NV, Yakovlev AA (2018) [Laboratory methods of estimation of biological efficiency of plant protection rodenticides from voles of genus *Microtus*]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4(98):58–62 (In Russian) [http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4\(98\)-58-62](http://www.doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4(98)-58-62)

Books and other monographs:

Agrios GN (2005) Plant pathology. Fifth Edition. San Diego: Elsevier. 952 p.

Chenkin AF, Zakharenko VA (1979) *Spravochnik agronoma po zashchite rasteniy* [Handbook of agronomist in plant protection]. Moscow: Rosselkhozizdat. 352 p. (In Russian)

Dolzhenko VI, ed (2009) *Metodicheskie ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam insektitsidov, akaritsidov, molluskitsidov i rodentitsidov v selskom khozyaystve* [Guides for registration trials of insecticides, acaricides, molluscicides and rodenticides in agriculture]. St. Petersburg: VIZR. 322 p. (In Russian)

Book chapters:

Palomares LA, Ramirez OT (1998) Insect cell culture: recent advances, bioengineering challenges and implication in protein production. In: Galindo E, Ramirez OT (eds) *Advances in bio-process engineering II*. Dordrecht: Kluwer Academic. 25–52

Dedkov VP, Volodina AA, Gubareva IYu (2006) [Review of fungi of the Kaliningrad region]. In: Dedkov VP, Gubareva IYu (eds) *Bioraznoobraziye Kaliningradskoy oblasti. Chast 1. Griby, lishayniki, plauny, khvoshchi i paprotniki Kaliningradskoy oblasti* [Biodiversity of the Kaliningrad region. Part 1. Fungi, lichens, mosses, horsetails and ferns in Kaliningrad region]. Kaliningrad.: Baltiyskiy federalnyy universitet imeni Immanuila Kanta. 6–78 (In Russian)

Dissertations:

Hao J (2014) Genomic studies of abiotic stresses in grasses. *PhD Thesis*. Iowa. 155 p.

Mikhailova LA (1996) *Zakonomernosti izmenchivosti populyatsiy vozbuditelya buroy rzhavchiny i geneticheskiy control ustoichivosti pshenitsy k bolezni* [Variability patterns of the brown rust agent and genetic control of wheat resistance to the disease]. *Abstr. Dr. Biol. Thesis*. St. Petersburg. 63 p. (In Russian)

Invention patents:

Stamets PE (2002) Mycoattractants and mycopesticides. Invention patent US7122176B2

Online electronic documents:

Koppert BV. Mycotal: *Verticillium lecanii*-m. URL: <http://www.koppert.com> (29.04.2015)

Index Fungorum (2018) <http://www.indexfungorum.org/Names/Names> (20.10.2018)

Documents with no authorship declared:

Genetically modified crops: the ethical and social issues (1999) London: Nuffield Council on Bioethics

List of pesticides and agrochemicals approved for usage on the territory of Russian Federation (2018) Appendix to the journal «Zashchita i karantin rasteniy» 5:720–725 (In Russian)

GOST 21507-2013. Plant Protection. Terms and definitions (2014) Moscow: Standartinform (In Russian)

Научное издание.

Индекс 36189

Подписано к печати 20 июня 2019 г.

Формат 60x84/8. Объем 8 1/2 п.л. Тираж 300 экз. Заказ