



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

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2020 ТОМ **103** ВЫПУСК **2**
VOLUME ISSUE



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

All-Russian Institute of Plant Protection

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

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2020 TOM 103 ВЫПУСК 2
 VOLUME ISSUE

Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia
2020

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

Корректор англоязычных текстов: А.А. Намятова

Технический секретарь: С.Г. Удалов

Технический помощник: А.Г. Конончук

Журнал «Вестник защиты растений» (ISSN: 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. – Луговоеводство 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)

Индексируется в РИНЦ и CrossRef

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Белюсов И.А., кбн, ВИЗР

Белякова Н.А., кбн, ВИЗР

Вилкова Н.А., дбн, ВИЗР

Власенко А.Н., 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

Игнатов А.Н., дбн, РУДН

Каракотов 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

Намятова А.А., кбн, ВИЗР

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

Сорока С.В., ксxn, Белоруссия

Сухорученко Г.И., дсxn, ВИЗР

Ули – Маттила Т., 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

Эспевиг Т., PhD, Норвегия

Ответственные редакторы выпуска: Афанасенко О.С., Ганнибал Ф.Б., Новикова И.И., Токарев Ю.С.

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

Email: vestnik@vizr.spb.ru

<http://plantprotect.ru>

© Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENT

Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews**Пищеварительные гидролазы хлебных клопов: свойства, значение и возможные пути ограничения их активности****А.В. Конарев**

Digestive hydrolases of wheat bugs: properties, significance and possible ways to limit their activity

A.V. Konarev 65

Мини-обзоры / Mini-reviews**Бактериальный рак плодовых, ягодных и декоративных культур, вызываемый *Agrobacterium* spp.****А.М. Лазарев, А.Н. Игнатов, М.В. Воронина**Crown gall disease of fruit trees, berry plants and ornamentals caused by *Agrobacterium* spp.

A.M. Lazarev, A.N. Ignatov, M.V. Voronina 87

Развитие исследований в аналитической лаборатории ВИЗР по оценке остаточных количеств пестицидов**М.О. Петрова, Т.Д. Черменская, В.И. Долженко**

Development of the research to assess residual pesticides in the analytical laboratory of VIZR

M.O. Petrova, T.D. Chermenskaya, V.I. Dolzhenko 93

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Устойчивость диких видов и гибридов картофеля к альтернариозу и фитофторозу****Н.М. Зотеева, В.В. Васипов, А.С. Орина**Resistance of wild *Solanum* species and hybrids to early and late blight

N.M. Zoteyeva, V.V. Vasipov, A.S. Orina. 99

Устойчивость перспективных образцов яровой твердой пшеницы к листовостебельным болезням**А.С. Рсалиев, Е.И. Гульятеева, П.Н. Мальчиков, Е.Л. Шайдаюк, Н.М. Коваленко, Д.Р. Яковлева, М.Ж. Байгутов**

Resistance of perspective spring durum wheat accessions to foliar diseases

A.S. Rsaliyev, E.I. Gulytaeva, P.N. Malchikov, E.L. Shaydayuk, N.M. Kovalenko, D.R. Yakovleva, M.Zh. Baygutov 105

Молекулярная идентификация генов устойчивости к стеблевой ржавчине у новых допущенных к использованию сортов пшеницы**О.А. Баранова**

Molecular identification of stem rust resistance genes in new regional wheat varieties

O.A. Baranova 113

Выделение уровней фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений на примере Ленинградской области**Н.Н. Лунева**

Allocation of levels of phytosanitary zoning of the territory concerning weeds using Leningrad Region as an example

N.N. Luneva 119

Распространение латука компасного *Lactuca serriola*, латука сибирского *Lactuca sibirica* и латука татарского *Lactuca tatarica* (Compositae) на территории России

Н.Н. Лунева, Ю.А. Федорова

Distribution of the prickly lettuce *Lactuca serriola*, the Siberian lettuce *Lactuca sibirica* and blue lettuce *Lactuca tatarica* (Compositae) in Russia

N.N. Luneva, Yu.A. Fedorova 133

Heterologous expression of two acetylcholinesterases of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* in bacteria *Escherichia coli* and production of form-specific antibodies

V.V. Dolgikh, I.V. Senderskiy, V.S. Zhuravlyov, S.A. Timofeev, Yu.V. Volodartseva, S.R. Fasulati, D.S. Kireeva

Гетерологичная экспрессия ацетилхолинэстераз колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* в бактериях *Escherichia coli* и получение антител к отдельным формам фермента

В.В. Долгих, И.В. Сендерский, В.С. Журавлев, С.А. Тимофеев, Ю.В. Володарцева, С.Р. Фасулати, Д.С. Киреева 144

Краткие сообщения / Short Communications

Differential susceptibility of *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) to infection with entomopathogenic fungi

M.V. Levchenko, A.G. Kononchuk, A.V. Gerus, G.R. Lednev

Дифференциальная восприимчивость *Locusta migratoria* и *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) к заражению энтомопатогенными грибами

М.В. Левченко, А.Г. Конончук, А.В. Герус, Г.Р. Леднев 150

Хроника / Chronicle

Памяти О.Н. Наумовича

In memory of O.N. Naumovich 153

Наука как жизнь (к 100-летию со дня рождения П.Я. Голодриги)

Science as life: to the 100th anniversary of P.Ya. Golodriga

Брекина О.В.. 154

ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЕ ГИДРОЛАЗЫ ХЛЕБНЫХ КЛОПОВ: СВОЙСТВА, ЗНАЧЕНИЕ И ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ОГРАНИЧЕНИЯ ИХ АКТИВНОСТИ

А.В. Конарев

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: al_konarev@hotmail.com

Пищеварительные гидролазы выступают в качестве ключевых элементов пищевых связей в биоценозах. От эффективности гидролаз в снабжении организма фитофага пластическими и энергетическими материалами кормовых растений зависит его жизнь и способность к воспроизводству. Системы пищеварительных гидролаз насекомых-фитофагов сформировались в ходе их длительной коэволюции с растениями. Это справедливо и для растительноядных клопов, включая такого опасного вредителя пшеницы, как вредная черепашка. Знание особенностей пищеварительных систем вредителей необходимо для разработки методов борьбы с ними. Основным экономически значимым фактором вредоносности представителей рода *Eurygaster* и других клопов, повреждающих зерно пшеницы, выступают протеазы. Они нарушают структуру клейковины и серьезно ухудшают хлебопекарные качества муки. α -Амилазы обеспечивают усвоение крахмала – главного источника энергии этих насекомых. Пищеварительные α -амилазы и протеазы вредной черепашки изучаются во всем мире на протяжении многих лет, однако данные по ним еще весьма фрагментарны. Недостаточно сведений относительно ферментов этих клопов, вовлеченных в питание вегетативными органами злаков. Данные литературы по более изученным группам клопов и других насекомых могут помочь в выборе путей исследования ферментов обсуждаемой группы вредителей. Существует немало способов укрепления поврежденной клопами клейковины, однако далеко не все они безопасны. Белковые ингибиторы протеаз и других гидролаз рассматриваются в качестве перспективных элементов в разработке безопасных для человека и окружающей среды методов борьбы с хлебными клопами и снижения причиняемого ими ущерба качеству зерна. Пониженная чувствительность протеаз вредной черепашки к белковым ингибиторам может быть преодолена путем конструирования новых ингибиторов на основе известных и хорошо изученных форм ингибиторов протеаз других организмов, а также с привлечением иных высокоспецифичных подходов, включая использование антител к активным центрам ферментов или РНК-интерференцию. Сами протеазы хлебных клопов могут найти применение в диагностике повреждения зерна, в пищевых технологиях и в медицине.

Ключевые слова: вредная черепашка, хлебные клопы, пищеварительные гидролазы, α -амилазы, протеазы, клейковина пшеницы, ингибиторы

Поступила в редакцию: 28.04.2020

Принята к печати: 28.05.2020

Введение

Пищеварительные гидролазы делают возможным усвоение насекомыми, как и другими животными, энергетических и пластических пищевых субстратов. Существующие в настоящее время комплексы пищеварительных ферментов фитофагов и системы их ингибиторов и других защитных белков у растений представляют собой промежуточный результат непрекращающейся в течение сотен миллионов лет сопряженной эволюции данных организмов. Особенности пищеварительной системы того или иного фитофага отражают как эволюционную историю его становления, так и свойства потребляемых им углеводов, белков, липидов и т.д., содержащихся в кормовых растениях.

Клопы из семейств Scutelleridae и Pentatomidae, повреждающие зерно пшеницы и ячменя, наносят существенный ущерб качественным и количественным параметрам урожая этих важнейших культур в России, странах Европы, Азии и Африки (Павлюшин и др. 2015; Critchley, 1998; Dizlek et al., 2018). Наиболее опасным и экономически значимым вредителем из них выступает клоп вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. Кроме него в России встречаются еще 5 видов этого рода (Neimorovets, 2020), из которых по меньшей мере два, *Eurygaster maura* L. и

Eurygaster austriaca Schrank, также вредоносны для сельского хозяйства. Повреждение клопами зерна существенно снижает его экспортную стоимость, и прямые финансовые потери российских поставщиков составляют порядка \$100–150 млн/год (Рылько, 2011). В свою очередь, в Азии на пространстве от Турции до Киргизстана и Пакистана клопы вредят посевам зерновых культур на площади 15 млн га (Davari and Parker, 2018). При отсутствии химических обработок и других мер защиты это приводит к потерям до 30% урожая ячменя и до 50–100% пшеницы (Parker et al., 2011; Darkoh et al., 2010). В Новой Зеландии сходным по типу наносимого ущерба видом выступает клоп *Nysius huttoni* White (Lygaeidae) (Every et al., 2005). Изменение климата может привести к существенному расширению ареала с продвижением данных вредителей в более северные регионы (Aljaryian et al., 2016).

Оценка значения определенной группы пищеварительных ферментов хлебных клопов зависит от рассматриваемой проблемы. С позиций потребительских качеств зерна для человека наиболее важны протеазы вредителя, повреждающие клейковину. Крахмал зерна служит основным источником энергии вредителя, без потребления которого невозможна, в частности, его перезимовка. В связи с этим

первостепенное значение имеют α -амилазы. Питание клопа вегетативными частями растения обеспечивается пока ещё недостаточно изученным набором соответствующих гидролаз. При рассмотрении таких параметров жизнеспособности, как всхожесть зерна, могут быть важны разные группы гидролаз слюнных желез вредителя. Поскольку в поврежденном зрелом зерне из всех секретированных клопами гидролаз выявляются лишь некоторые протеазы (Konarev et al., 2019), именно они представляют интерес для диагностики повреждения и т.д. Кроме того, протеазы и другие гидролазы насекомых, включая хлебных клопов, представляют большой интерес в связи с возможностями их использования в различных пищевых и химических технологиях, производстве биотоплива, моющих средств и т.д. (Olanca and Ozay, 2010; Mika et al., 2013; Kannan et al., 2019).

Главным экономически значимым фактором вредоносности хлебных клопов служат протеазы слюнных желез, которые вводятся в зерно при питании этих сосущих вредителей (Kretovich, 1944, Sivri and Koksel, 1998; Konarev et al., 2011, 2019; Dizlek and Ozer, 2016). Протеазы, оставшиеся в эндосперме после всасывания насекомым ферментированного содержимого, сохраняют свою активность после созревания зерна и его хранения в течение многих лет. При замесе теста экзогенные протеазы, присутствующие в поврежденных зернах, гидролизуют запасные белки, формирующие клейковину, в том числе глюteniны, от которых во многом зависят хлебопекарные свойства муки. Структура клейковины нарушается, и тесто “растекается”. Помимо протеаз слюнные железы вредной черепашки вырабатывают α -амилазы и липазы (Вилкова, 1968, 1979; Павлюшин и др. 2015; Конарев и Фомичева, 1991; Mehrabadi et al., 2014). К сожалению, протеом и транскриптом вредной черепашки еще недостаточно изучены, однако известно, что в слюнных железах ряда видов растительноядных Hemiptera синтезируются и другие пищеварительные гидролазы, в т.ч. полигалактуроназы, а также факторы, участвующие в детоксикации ксенобиотиков для преодоления защитных механизмов растений – эстеразы, глутатион S-трансферазы и цитохром P450 (Cooper et al., 2013). Отмечены существенные различия в уровнях экспрессии генов, связанных с пищеварением и обезвреживанием защитных веществ растений, у особой большой злаковой тли *Sitobion avenae* (Fabricius), питающихся на пшенице и ячмене (Wang et al., 2020). По наличию соответствующих мРНК в слюнных железах клопа слепняка *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) выявлена работа 45 генов, кодирующих полигалактуроназы, двух – α -амилазы, по одному для глюкозидазы, гликангидролазы и аминопептидазы, четырех – липазы и не менее 15 – сериновые протеазы (Zhu et al., 2016). Хлебные клопы не

ограничиваются питанием зернами злаков и повреждают также листья и стебли, нанося при этом значительный ущерб растению. Для успешного усвоения питательных веществ из вегетативных органов вредителю необходим соответствующий арсенал гидролаз. Синтез тех или иных гидролаз пищеварительной системой насекомого определяется характером пищи (Li et al., 2017), а его интенсивность может возрастать при наличии в ней соответствующих ингибиторов для компенсации потери активности (Pytelkova et al., 2009). Частично гидролизованный в ходе внекишечного пищеварения материал растительных тканей поступает в кишечник клопа, где подвергается действию другого набора протеаз и амилаз, обеспечивающих полное расщепление пептидов и углеводов до соединений (моно- и олигомеров), доступных для всасывания. Важная задача защиты растений и пищевого производства – ограничение деструктивной активности протеаз и других гидролаз хлебных клопов, что может быть достигнуто разными путями, в том числе с использованием белковых ингибиторов. Протеазы хлебных клопов также представляют интерес как модификаторы белков клейковины для использования в пищевой промышленности и медицине (получение белковых гидролизатов, снижение токсичности белков клейковины для глютен-чувствительных пациентов и т.д.). Как и белки других членистоногих, пищеварительные ферменты и компоненты секрета слюнных желез хлебных клопов могут проявлять аллергенную активность и представлять определенную опасность, провоцируя астму у работников мукомольного производства (Argentia et al., 2004). Как ведущий фактор вредоносности хлебных клопов, протеазы могут быть использованы в роли перспективного критерия для диагностики повреждения зерна. Подавление активности пищеварительных гидролаз хлебных клопов может быть использовано для ограничения наносимого ими ущерба производству. Одним из подходов здесь может служить использование природных или специально сконструированных белковых ингибиторов ферментов. При этом следует учитывать особенности пищеварения данных вредителей. Подавление гидролаз обоих отделов пищеварительного тракта значительно повышает энергетические затраты на усвоение пищи насекомыми, что ведет к снижению их численности. Кроме того, ингибирование гидролаз слюнных желез способствует снижению потерь качества урожая зерна. В обзоре освещены современные представления о свойствах, значении, возможных путях использования, а также ограничения нежелательной активности протеаз вредной черепашки и других хлебных клопов. В связи с ограниченностью сведений по некоторым гидролазам именно хлебных клопов, будут обсуждены и данные по таксономически близким клопам или другим насекомым.

Внекишечное пищеварение

Внекишечное пищеварение широко распространено у беспозвоночных. Оно характерно для хищных представителей 80% семейств Arthropoda (Cohen, 1998). Разнообразие вариантов питания, встречающихся у настоящих клопов (Heteroptera), превышает таковое у почти всех других групп насекомых (Zeng and Cohen, 2000; Cohen, 1998). Интересный аспект их пищевой адаптации – “трофическая гибкость”, присущая факультативному питанию зоофагов

растениями (зоофитофагия) или наоборот, питанию фитофагов животными (фитозоофагия) (Zeng and Cohen, 2000), что находит отражение, в частности, в высокой степени структурной близости пищеварительных ферментов у разных групп клопов. Ряд видов клопов – важных вредителей сельскохозяйственных культур, сочетают зоофагию с фитофагией в зависимости от доступности той или иной пищи. Считается, что, в целом, зоофитофагия сопряжена

с повышенной ролью пищеварительных протеаз относительно α -амилаз, тогда как у фитозоофагов (виды рода *Lygus* Hahn, семейство Miridae) или фитофагов (*Eurygaster* Lap.) соотношение ролей данных гидролаз обратное. Кроме того, соотношение, как и состав ферментов, могут меняться в зависимости от состава пищи. При этом, например, специфичная к белкам клейковины протеаза GHP3 из слюнных желез вредной черепашки обладает высокой степенью гомологии как с пищеварительными протеазами хищных клопов, так и протеазами, входящими в состав продуцируемых ими ядов (см. ниже). Сходство молекулярной структуры гидролаз растительноядных, хищных и кровососущих клопов может служить объяснением относительной легкости “переключения”, в эволюционном масштабе, между вариантами питания. В связи с этим

выглядит в известной степени обоснованным распространенное в современной экологии расширенное представление о хищничестве как о любом поедании одних организмов другими, причем без обязательного умерщвления жертвы. Пока нет единого представления о том, что было первичным для клопов – зоофагия или фитофагия. Ряд данных указывает на то, что у предков современных клопов переход от зоофагии к фитофагии происходил неоднократно. Среди представителей многих групп из подотряда Heteroptera встречаются как зоофаги, так и фитофаги (Walker et al., 2016). Отдельные внутривидовые группы некоторых клопов, например, из семейства Miridae, могут проявлять генетически детерминированную специализацию к тому или иному варианту питания (Dumont et al., 2017).

α -Амилазы

Крахмал служит важнейшим источником энергии фитофагов, в связи с чем роль расщепляющих его гидролаз в пищеварении многих насекомых-фитофагов, включая вредную черепашку и других хлебных клопов, особенно высока (Вилкова, 1968, 1980). Зерно пшеницы содержит около 70% крахмала (James et al., 2003) В составе пшеничного крахмала представлены два типа полимеров D-глюкозы – линейный (амилоза) и разветвленный (амилопектин), причем последний существенно преобладает. Соотношение амилозы и амилопектина оказывает существенное влияние на технологические и иные качества зерна, причем многое зависит от структуры амилопектина. Гранулы крахмала у разных растений существенно отличаются по подверженности гидролизу α -амилазами разных видов фитофагов. При сходном соотношении обоих полимеров в устойчивом и неустойчивом к вредной черепашке сорте пшеницы наблюдалась связь между пониженной подверженностью крахмала гидролизу α -амилазой вредителя и относительно высокой устойчивостью сорта, что объясняется особенностью структуры амилопектина (Буринская, 1985).

α -Амилазы или 1,4- α -D-глюкан-глюкогеногидролазы (КФ 3.2.1.1) гидролизуют полисахаридную цепь крахмала и других полимеров D-глюкозы до олигосахаридов различной длины. α -Амилазы вырабатываются в запасующих крахмал тканях растений при прорастании, грибами при развитии в растительном субстрате и т.д. У животных, в т.ч. растительноядных насекомых, α -амилазы входят в число наиболее важных пищеварительных гидролаз (Da Lage, 2018). У насекомых, включая клопов, как и у других животных, геном, как правило, содержит несколько вариантов генов α -амилаз, что предположительно расширяет возможности утилизации разных форм крахмала в различных условиях (Da Lage et al., 2002; Da Lage, 2018; Ghamari et al., 2014). В целом, α -амилазы насекомых по структуре близки α -амилазам других животных и объединены в подсемейство гликозилгидролаз GH13_15 совместно с аналогичными ферментами других беспозвоночных (Stam et al., 2006). При этом наблюдаются существенные отличия между ферментами разных групп насекомых в рамках упомянутой структуры (Da Lage, 2018). У клопов амилазы синтезируются в двух независимых отделах пищеварительного тракта – слюнных железах и кишечнике (Вилкова, 1980; Ravan et al., 2009; Ramzi et al., 2016; Li

et al., 2017). α -Амилазы, как и другие гидролазы хлебных клопов, изучаются довольно давно и многими авторами (Вилкова 1980; Конарев, 1981; Konarev, 1996; Mehrabadi et al., 2014), однако данные по ним более скудны и разрознены по сравнению со такими ферментами у кровососущих, хищных и других растительноядных клопов. Еще не отсекарованы геномы представителей родов *Eurygaster* и *Aelia* Fabricius, что существенно затрудняет анализ их ферментативных систем. Накоплено недостаточно сведений и по анализу транскриптомов их пищеварительных органов. Вследствие этого в обзоре приходится учитывать и литературные данные по другим видам клопов. У вредной черепашки α -амилазы слюнных желез и кишечника отличаются по компонентному составу при изофокусировании, электрофоретической подвижности и отношению к белковыми ингибиторам из зерна пшеницы (Конарев, 1982а, 1982в, 1992). В слюнных железах растительноядного клопа *L. lineolaris* выявлена экспрессия двух кодирующих α -амилазу генов (Zhu Y-C et al., 2016). В базе данных NCBI представлены результаты секвенирования генома (Sparks et al., 2020) клопа *Halyomorpha halys* (Stål) (Pentatomidae), таксономически ближайшего к вредной черепашке исследованного в этом отношении вида, другого опасного вредителя сельскохозяйственных культур. В ней содержится информация, по крайней мере, о двух генах α -амилазы. Уровень экспрессии α -амилаз у насекомых может меняться в зависимости от состава пищи или присутствия в ней ингибиторов, причем отдельные изоформы могут отличаться по отношению к белковым ингибиторам (Pytelkova et al., 2009). Экспрессия генов α -амилаз может также меняться в ходе развития насекомого. Так, у личинок хищного клопа *Podisus maculiventris* (Say) (Pentatomidae) число изоформ α -амилаз увеличивается от одной у первого личиночного возраста до трех у пятого, а также у взрослых особей (Ghamari et al., 2014).

Большинство α -амилаз насекомых имеет молекулярную массу от 50 до 55 кДа (Franco et al., 2002; Da Lage, 2018). В кишечнике вредной черепашки *E. integriceps* методом электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН) выявлены компоненты с молекулярной массой 49 и 52 кДа (Bandani et al., 2009). Оптимум pH α -амилаз насекомых колеблется в пределах от 4.5 до 7, а у видов рода *Eurygaster* этот показатель находится в интервале pH от 6 до 7 (Ravan et al., 2009). У вредной черепашки, как и у

многих других насекомых, активность α -амилаз снижается в присутствии ионов Mg^{2+} и повышается в присутствии ионов Cl^- (Ravan et al., 2009).

В одном из исследований не было обнаружено изменений в α -амилазной активности в зерне, поврежденном клопами *Eurygaster* и *Aelia*, и в структуре гранул крахмала в зонах повреждения (Rosell et al., 2002). На основании этого сделан вывод о непричастности амилолитических ферментов к ухудшению качества зерна при повреждении клопами. На наш взгляд, эта точка зрения не может считаться достаточно обоснованной, поскольку противоречит результатам, полученным другими авторами (Вилкова, 1973, 1980, Павлюшин, 2015; Бурлака и Каплин, 2015). В частности, у поврежденных вредной черепашкой зерен отмечено пониженное содержание крахмала (Dizlek, 2018). Клопы, встречающиеся в Новой Зеландии, отличались по воздействию α -амилаз на зерно. Повреждение зерна

N. huttoni и рядом других клопов не приводило к видимому изменению структуры крахмальных зерен, в то время как белковая составляющая эндосперма заметно уменьшалась. Одним из приводимых объяснений было отсутствие α -амилаз в секрете слюнных желез данных клопов. Лишь укусы клопа *Stenotus binotatus* (Fabricius) приводил к деградации крахмальных гранул и повышенной активности α -амилаз в зерне (Every et al. 1992). В слюнных железах вредной черепашки выявляется высокоактивная α -амилаза (Вилкова, 1980; Konarev, 1996), а повреждение зерна этим клопом сопровождается разрушением крахмальных гранул (Павлюшин и др., 2015). Очевидно, что ограничение усвояемости клопами главного источника их энергии – крахмала, представляется перспективным направлением создания устойчивых к данным вредителям форм пшеницы.

Ингибиторы α -амилаз

Среди природных регуляторов активности α -амилаз насекомых особое внимание привлекают белковые ингибиторы. В природе они играют важную роль в иммунитете растений к насекомым, а сконструированные на их основе высокоспецифичные к α -амилазам вредителей формы ингибиторов рассматриваются как перспективные и безопасные для человека и окружающей среды факторы защиты растений. Семена растений содержат ингибиторы α -амилаз нескольких типов, отличающиеся по молекулярной массе и структуре. Наиболее перспективными для применения в целях защиты растений от вредителей считаются лектиноподобные, тауматин-подобные, кноттин-подобные, γ -пуротионин-подобные, подобные ингибитору Кунитца из бобовых, а также ингибиторы из злаков (Franco et al., 2002; Конарев, 2017). Отличия по структуре и механизму действия обуславливают широкий спектр специфичности ингибиторов к α -амилазам разных групп организмов и видов насекомых. Помимо защитных ингибиторов, нацеленных на фитофагов, растения содержат специализированные ингибиторы эндогенных α -амилаз (Конарев, 1982а, 1982в; Конарев, 1985; Yamagata et al., 1998; Konarev et al., 1996; Franco et al., 2002). Молекулярная масса ингибиторов α -амилаз из растений колеблется от 4–13 кДа у мономерных форм до 50–60 кДа у ди- и тетрамерных (Franco et al., 2002).

α -Амилазы разных видов насекомых существенно отличаются по отношению к белковым ингибиторам (Конарев и Фомичева, 1991; Конарев, 1992; Franco et al., 2002). Так, α -амилазы долгоносиков *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) и *Callosobruchus chinensis* L. неодинаково реагировали с отдельными компонентами ингибиторов из семян разных видов и образцов фасоли (Konarev et al., 1999а). Нечувствительность α -амилазы к определенному ингибитору может быть результатом эволюционной адаптации к нему. Так, α -амилаза вредителя зернобобовых культур фасолевого зерновки *Acanthoscelides obtectus* Say не чувствительна к белковому ингибитору α API из семян основного кормового растения – фасоли *Phaseolus vulgaris* L. (Kluh et al., 2005), но подавляется ингибитором 0.19 WI из зерна пшеницы (Franco et al., 2000). Подобные наблюдения привели к созданию трансгенных растений с устойчивостью к вредителю, основанной на использовании

«незнакомых» для него вариантов ингибиторов (Solleti et al., 2008. Katoch et al., 2016; Chaudhary et al., 2018).

Зерно мягкой пшеницы содержит несколько вариантов ингибиторов α -амилаз (Buonocore et al., 1977; Lyons et al., 1987; Franco et al., 2000). Мономерные формы с молекулярной массой около 12 кДа более активны по отношению к α -амилазам большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* L. и ряда других вредителей запасов, а димерные также подавляют α -амилазу слюны человека (Buonocore et al., 1977; Конарев, 1982б; Конарев и Фомичева, 1991). Ингибиторы α -амилаз у злаков – представители широко распространенной у растений группы 2S альбуминов (Tatham and Shewry, 2008), куда входят также некоторые запасные белки и ингибиторы протеаз. Особый интерес для защиты растений представляют бифункциональные ингибиторы, совмещающие в одной молекуле активность ингибитора α -амилаз насекомых и ингибиторов протеаз животных и микроорганизмов, например, трипсина или субтилизина (Ohtsubo and Richardson, 1992; Yamagata et al., 1998; Franco et al., 2002). В зерне дикого ячменя *Hordeum bulbosum* L. обнаружен бифункциональный ингибитор α -амилаз насекомых и трипсина (Konarev and Lovegrove, 2012). Также существуют формы, обладающие ингибирующей активностью к α -амилазам насекомых и ферментативной хитиназной активностью, возможно направленной против фитопатогенных грибов (Ary et al., 1989).

У пшеницы изоформы ингибиторов α -амилаз насекомых проявляют высокую изменчивость по признаку наличия отдельных компонентов, контролируемых хромосомой 6В. Это сопровождается значительными различиями между образцами или отдельными зёрнами образцов по уровню активности ингибиторов (Конарев 1992; Konarev and Lovegrove, 2012). Особенно заметны проявления такой изменчивости у тетраплоидных пшениц эволюционного ряда *Triticum turgidum* L. Весьма вероятно, что именно таковой была природа изменчивости образцов по активности ингибиторов по отношению к α -амилазам, которая коррелировала с устойчивостью к зерновым вредителям (Yetter et al., 1979). Наследование компонентов спектра ингибиторов α -амилаз насекомых подчиняется простым менделевским закономерностям (Конарев и Митрофанова, 1987). Компонентный состав содержащихся в эндосперме

пшеницы ингибиторов α -амилаз (и ингибиторов протеаз) насекомых отражает (Конарев, 1992; Konaev, 1996) полиплоидную природу и геномный состав мягкой пшеницы и ее эволюционные связи с тетраплоидными пшеницами и эгилопсами – предполагаемыми донорами геномов В и D (Конарев, 1983).

Особенность α -амилаз вредной черепашки – практически полное отсутствие (у ферментов из слюнных желез) или очень низкая чувствительность (в кишечнике) к ингибиторам из зерна пшеницы (Конарев, 1981, 1982в, 1992; Konaev, 1996). α -Амилазы из кишечника клопа на 2–3 порядка менее чувствительны к ингибиторам из зерна пшеницы по сравнению с ферментом мучного хрущача *T. molitor* (Конарев, 1982в; Konaev, 1996). При этом имеющиеся данные все же свидетельствуют о возможной защитной роли данных ингибиторов по отношению к хлебным клопам. Поглощенные вместе с разжиженным содержимым эндосперма ингибиторы α -амилаз насекомых сохраняют свою активность в кишечнике клопа вредная черепашка (Конарев, 1982в). Данные масс-спектрометрии подтверждают присутствие пшеничных ингибиторов α -амилаз (и ингибиторов протеаз) в содержимом кишечника вредителя (Saadati and Toorchi, 2017). Ряд исследователей анализировали действие слабообогатщенных препаратов ингибиторов из зерна пшеницы на кишечную α -амилазу

вредной черепашки. Экстракты из разных сортов мягкой пшеницы по-разному ингибировали кишечную α -амилазу клопа (Abdolahadi et al., 2016). Farhoodi et al. (2019) показали, что фракции водосолерастворимых белков, экстрагированные из зерна разных иранских сортов тетраплоидной *Triticum turgidum* L. и гексаплоидной мягкой (*T. aestivum* L.) пшеницы, существенно отличались по ингибирующей активности по отношению к кишечной α -амилазе этого вредителя. Наибольшей активностью обладали экстракты из зерна мягкой пшеницы. Мы можем объяснить это наличием у мягкой пшеницы активных ингибиторов α -амилаз насекомых, контролируемых хромосомой 6 генома D, в то время как зерно *T. turgidum* не содержит данных ингибиторов, а многие образцы данного вида лишены еще и сходных ингибиторов, контролируемых геномом В (Конарев, 1982б и в, 1992; Konaev, 1996). Если α -амилазы слюнных желез черепашки нечувствительны к ингибиторам из пшеницы, то по данным Mehrabadi et al., (2010, 2012), активность этих ферментов (как и кишечных) подавляется ингибиторами из тритикале – гибрида пшеницы и ржи. Это указывает на принципиальную возможность конструирования на их основе более специфичного и эффективного ингибитора, который мог бы быть использован при создании устойчивых к хлебным клопам форм пшеницы.

Полигалактуроназы

Стенки клеток растений представляют собой резервуар органического углерода планетарного масштаба (Pauly and Keegstra, 2008; Pauchet et al., 2010). Чтобы расщепить и усвоить этот богатый углеводами защитный барьер, микроорганизмы секретируют гидролазы, нацеленные на пектин, целлюлозу или гемицеллюлозы. Пектиновую основу клеточных стенок растений формируют нити полигалактуронана, состоящего из соединенных в цепь остатков α -D-галактуроносовой кислоты. Разрушение пектиновых веществ необходимо для обеспечения доступа гидролаз питающихся растениями микроорганизмов и насекомых к питательным веществам клеток растений. Важную роль в разрушении пектина играют полигалактуроназы (polygalacturonase, PG) – пектиназа, пектолаза и т.д., гидролизующие α -1,4 связи полигалактуронана. Насекомые, как и другие животные, преимущественно лишены данных ферментов, решают проблему разрушения клеточных стенок, в основном, за счет ферментов симбиотических микроорганизмов, обитающих в их пищеварительном тракте (Giron et al., 2017). Однако отдельные группы насекомых (некоторые жуки, тли, клопы и др.) приобрели пектин-гидролизующие ферменты за счет горизонтального переноса соответствующих генов от микроорганизмов более 100 миллионов лет назад. Гены полигалактуроназы у жуков из семейств Chrysomelidae и Curculionidae, а также клопов рода *Lygus* (Miridae) родственны соответствующим генам грибов аскомицетов (Allen and Mertens, 2008; Kirsch et al., 2014; Soucy et al., 2015; Xu et al., 2019), а у палочников – генам бактерий родов *Pantoea*, *Klebsiella*, and *Enterobacter* (Shelomi et al., 2016).

Вредная черепашка и другие хлебные клопы на разных стадиях развития питаются как вегетативными частями растения, так и созревающими зернами, где в клеточных стенках присутствуют в разных соотношениях

структурные полисахариды – глюканы, ксиланы, пектин и др. (Burton and Fincher, 2014; Chateigner-Boutin et al., 2014; Zhang et al., 2014). Эти соотношения меняются в ходе развития растений и, например, у пшеницы содержание пектина в вегетативных органах снижается с возрастом. Кроме того, состав клеточных стенок у злаков существенно отличается от такового у двудольных и большинства других однодольных. У пшеницы клеточные стенки в вегетативных частях и зернах также существенно отличаются по составу полисахаридов, причем в зерне пектинов содержится значительно меньше (Chateigner-Boutin et al., 2014). По-видимому, указанные различия между злаками и другими растениями отразились и на особенностях пищеварительных систем фитофагов. Сведений по гидролизующим пектин ферментам вредной черепашки пока еще мало. В отличие от клопов-фитофагов семейства Miridae, в слюнных железах вредной черепашки (сем. Scutelleridae) не удалось выявить гидролизующих пектин ферментов. У особей, питавшихся созревающими зернами, пектинэстеразная и полигалактуроназная активность присутствовали лишь в первом и четвертом отделах средней кишки (Vatanparast et al., 2011). Пока неясно, способны ли слюнные железы вредной черепашки синтезировать полигалактуроназы при питании вегетативными частями злаков. Можно предположить, что усвоению структурных полисахаридов клеточных стенок пшеницы хлебными клопами могут способствовать эндосимбиотические бактерии, жизненно необходимые данному фитофагу (Kafil et al., 2013). По некоторым данным, пока не подтвержденным другими авторами, у вредной черепашки все же есть собственный ген полигалактуроназы (Azam et al., 2015). Интересно, что питание зернами пшеницы индуцировало более значительную экспрессию этого гена в кишечнике клопов, чем питание зернами ячменя, ржи или тритикале.

Данные по анализу транскрипции контролирующего полигалактуроназу гена свидетельствуют о важности указанного фермента для пищеварения вредной черепашки и позволяют рассматривать его в качестве одной из «мишеней» для разработки подходов к борьбе с этим вредителем. В связи с этим могут представлять интерес белковые ингибиторы полигалактуроназ (polygalacturonase-inhibiting proteins, PGIP), присутствующие в клеточных стенках практически всех растений.

PGIP представляют собой гликопротеины, структурно близкие обширной группе богатых лейциновыми повторами (Leucine-repeat rich, LRR) белков, вовлеченных в реализацию важнейших механизмов иммунитета растений к бактериям, грибам и насекомым (Yagullina et al., 2016; Rathinam et al., 2020).

Протеазы играют ряд важнейших функций во всех живых организмах, и на долю кодирующих их генов приходится около 2% от общего числа генов (Barrett et al., 2001; Rawlings et al., 2004; Rawlings and Bateman, 2019). Пищеварительные протеазы, осуществляющие гидролиз пептидных связей в белках пищи, обеспечивают насекомых, как и другие организмы, аминокислотами – мономерами для построения собственных белков, а дефицит необходимых аминокислот ведет к негативным последствиям, вплоть до летального исхода. В связи с этим оправдан подход к протеазам как к потенциальным «мишеням» для разработки методов и средств защиты растений от вредителей, специфичных и безопасных для человека, сельскохозяйственных животных и окружающей среды. Кроме того, протеазы различных организмов, в том числе насекомых, могут найти применение во многих технологических процессах (Philipps-Wiemann, 2018). Пищеварительные протеазы насекомых принадлежат, главным образом, к четырем основным классам, отличающимся по структуре активного центра и механизму действия – сериновые, цистеиновые, аспартильные и металлопротеазы (Terra and Ferreira, 2012). Отличием протеолитического комплекса некоторых групп насекомых от такового у млекопитающих служит вовлечение в пищеварение, помимо широко распространенных сериновых и аспартильных ферментов, цистеиновых протеаз (Oliveira et al., 2003). Это существенно расширило пищевые адаптации насекомых и позволило более эффективно гидролизовать некоторые белки растений, например, проламины, а также нейтрализовать белковые ингибиторы протеаз и токсичные белки типа лектинов. Считается, что переходы от животной пищи к растительной (например, к лишенному белков флоэмному соку) и обратно, а также давление отбора, могли приводить к потере определенных типов протеаз, в частности, сериновых, и восполнению их отсутствия в кишечнике за счет «рекрутирования» лизосомальных ферментов типа катепсинов В и L (Terra et al., 2019). Имеющиеся данные позволяют предположить появление подобных протеаз в кишечнике в результате дубликации исходных лизосомальных генов протеаз с последующей дивергенцией, позволившей осуществлять секрецию «новых» протеаз из клетки и их активацию в полости кишечника. Такое дополнение арсенала протеаз произошло относительно недавно в эволюционном масштабе и наблюдается у некоторых групп клопов, тлей и

PGIP подавляют активность эндогенных и экзогенных PG. PGIP из фасоли способны подавлять активность PG слюнных желез клопов семейства Miridae, причем одни изоформы ингибиторов проявляли более высокую специфичность к эндогенным PG, а другие – к PG насекомых (D'Ovidio et al., 2004; Frati et al., 2006). На примере арабидопсиса показана защитная роль PGIP в отношении жука листоеда *Phaedon cochleariae* F., а также установлено, что PG насекомых ингибируются теми же PGIP, что и PG фитопатогенных бактерий и грибов. Можно предположить, что это отражает сходство PG насекомых и микроорганизмов, возникшее в результате горизонтального переноса генов.

Протеазы

жесткокрылых. У ряда клопов и жуков «лизосомальные» ферменты теперь соседствуют с сериновыми и другими, что обеспечивает им более полное усвоение белковой пищи. Цистеиновые протеазы найдены и в кишечнике вредной черепашки (Amiri et al., 2016). У представителей более древних таксонов, например, тараканов, в кишечнике преобладают сериновые протеазы, а «лизосомальных» цистеиновых ферментов нет (Tamaki et al., 2014).

До последнего времени не существовало единого мнения относительно внекишечного пищеварения у клопов – осуществляется ли при этом реальное переваривание белков и углеводов до мономеров, доступных для усвоения, или его основная задача заключается лишь в разжижении тканей жертвы/растения до консистенции, достаточной для всасывания. Так, в кишечнике хищного клопа *Podisus nigrispinus* (Dallas), входящего, как и ряд хлебных клопов, в семейство Pentatomidae, выявляются мышечные волокна жертв, которые окончательно перевариваются кишечными протеазами и другими гидролазами (Fialho et al., 2012). Коллагеназа, вырабатываемая слюнными железами, лишь фрагментировала ткани. По-видимому, сходная ситуация с перевариванием белков может наблюдаться и у клопов, высасывающих содержимое семян, размягченное соответствующими протеазами.

Особенность белков клейковины, содержащихся в эндосперме пшеницы, заключается в их нерастворимости в физиологических условиях как из-за высокого содержания пролина и глутамина, так и ассоциации субъединиц глютеина в гигантские сети за счет дисульфидных связей (Shewry and Halford, 2002; Shewry, 2019). Для перевода данных белков в состояние, пригодное для всасывания, вредная черепашка и другие хлебные клопы вводят в эндосперм протеазы, секретированные слюнными железами. Под их действием высокомолекулярные агрегаты белков клейковины разрушаются. В поврежденных клопами зернах увеличивается содержание растворимых в присутствии ДСН белков, а количество «неизвлекаемого» белка снижается (Sivri et al., 2004).

Для щитников характерно «двухфазное» пищеварение, где слюнные железы и кишечник имеют разные функции и, соответственно, состав гидролаз. Слюнные железы, их секрет и кишечник растительного мраморного клопа *H. halys* существенно отличаются по составу и, видимо, функциям протеаз (Lomate and Bonning, 2018).

Анализ литературы указывает на принципиальное сходство систем пищеварительных протеолитических ферментов у представителей разных семейств подотряда Heteroptera. Отличия касаются, главным образом, степени экспрессии протеаз, адекватных главному кормовому белку. У хищников разжижение мышечных тканей жертвы осуществляется, в частности, коллагеназами (Fialho et al., 2012). У кровососущих клопов есть протеазы, специфичные к белкам крови (Santiago et al., 2017).

Набор протеаз слюнных желез вредной черепашки включает формы типичных сериновых трипсиноподобных и химотрипсиноподобных (по молекулярной массе, субстратной специфичности и отношению к ингибиторам) ферментов (Конарев и др., 2017), характеризующихся высокими изоэлектрическими точками (ИЭТ) и чувствительностью к тем или иным известным белковым ингибиторам. Подобные протеазы обычны для хищных, кровососущих и растительноядных представителей различных семейств клопов. В то же время поглощение высокомолекулярных комплексов белков клейковины из эндосперма требует его разжижения, что обеспечивается высокоспецифичными протеазами, в том числе с ИЭТ близкими к 7.0 или «нейтральными» (Konarev et al., 2011, 2019). Протеаза, похожая по способности гидролизовать высокомолекулярные субъединицы глютеина, но отличающаяся от упомянутых ферментов вредной черепашки по субстратной специфичности (сайту гидролиза), секретируется слюнными железами новозеландского клопа *N. huttoni* (Every et al., 2005).

В слюнных железах и кишечнике опасного вредителя многих культур клопа-слепняка *L. lineolaris* были выявлены несколько трипсиноподобных по структуре сериновых протеаз (Zhu et al., 2003). Протеазы слюнных желез с молекулярной массой около 26 кДа обладали способностью гидролизовать желатин, казеин и VApNA (стандартный субстрат, применяемый для анализа активности бычьего трипсина) и ингибировались апротинином и PMSF. Протеазы синтезировались в составе полипептида, состоящего из сигнального пептида, пропептида (активационного пептида) и зрелого фермента с характерной для многих сериновых протеаз животных N-концевой аминокислотной последовательностью IVGG. Слюнные железы и кишечник отличались по набору протеаз.

Обнаружено, что повышение экспрессии пищеварительных протеаз у насекомых в ответ на изменения в составе пищи, в частности, на появление ингибиторов протеаз, сопровождается усилением синтеза в пищеварительных органах определенных эндогенных ингибиторов, обладающих, по-видимому, регуляторной или ограничительной функцией для защиты собственных белков насекомого от нежелательного протеолиза (Lomate et al., 2018). Анализ сиалотранскриптома кровососущих клопов, наиболее изученных с точки зрения молекулярной биологии, указывает на синтез в их слюнных железах как сериновых протеаз, так и разнообразных белковых ингибиторов, в частности из семейства ингибитора Kazal (Santos et al., 2007). Эти ингибиторы, подавляя регуляторные протеазы жертвы, обеспечивают более эффективное всасывание крови. В организме растительноядного клопа *H. halys* (Pentatomidae) также присутствуют ингибиторы типа Kazal, родственные ингибитору тромбина дипепталогастину (NCBI ID:

XP_014283937.2). Пока неясны функции данного ингибитора – либо это «отголоски» хищничества, либо ограничение активности эндогенных протеаз. Вполне возможно, что хлебные клопы также могут обладать подобными ингибиторами. Среди возможных путей их применения может быть использование в целях блокировки деструктивной для пищевых технологий протеолитической активности или для придания растениям устойчивости к вредителям. В свою очередь, ингибиторы протеаз, содержащиеся в насекомых – жертвах хищного клопа щитника *Andrallus spinidens* Fabricius (Hemiptera: Pentatomidae), способны подавлять активность трипсиноподобных ферментов из его слюнных желез (Zibaee et al., 2012). Интересно, что «кормовые» виды отличались по оказываемому эффекту. Эти данные могут указывать на потенциальную защитную роль данных белков.

Для вредной черепашки и многих других клопов характерно преобладание сериновых протеаз в слюнных железах и цистеиновых – в кишечнике, хотя сериновые в последнем также присутствуют (Вилкова, 1980; Конарев и Фомичева, 1991; Hosseinaveh et al., 2009; Amiri et al., 2016). Из слюнных желез клопа слепняка *Lygus hesperus* Knight (Miridae) была выделена протеаза с ИЭТ при изофокусировании при pH около 10, способная гидролизовать VApNA и казеин, чувствительная к ингибитору сериновых протеаз PMSF, а также к белковому ингибитору трипсина из лимских бобов и овомукоиду (Zeng et al., 2002). Дубовский и др. (2006) выявили в кишечнике вредной черепашки сериновые протеазы, активность которых не подавлялась ингибитором трипсина Кунитца. С помощью протеомных технологий Bezdi et al. (2012) показали присутствие в слюнных железах личинки пятого возраста и имаго вредной черепашки трипсина, химотрипсина, какой-то иной сериновой протеазы ssp3, а также α -амилаз, нуклеаз и ряда других ферментов.

Активность протеаз, как и других гидролаз в пищеварительных органах клопов, как правило, определяется наличием и типом потребляемой в данный момент пищи (Mehrabadi et al., 2014). Так, сериновые нейтральные протеазы активны в слюнных железах вредной черепашки, питающейся созревающим зерном, и почти незаметны у перезимовавших особей, питающихся проростками (Konarev et al., 2011). Изменения в активности пищеварительных ферментов могут происходить как за счет усиления экспрессии кодирующих их генов, так и путем активации запасенных зимогенов (Konarev et al., 2019).

Использование реплик, содержащих в качестве субстрата белки клейковины – глютеин или глиадин, а также желатиновых реплик существенно повысило чувствительность анализа протеаз вредной черепашки (Konarev et al., 2011; Konarev and Lovegrove, 2012). В результате было установлено присутствие в слюнных железах вредителя и поврежденном им зерне нескольких независимых систем протеаз – «нейтральных», с ИЭТ приблизительно между pH 6 и 7, специфичных к белкам клейковины, и «щелочных» (с ИЭТ выше 7), гидролизующих как клейковину, так и животный белок желатин (Конарев и др. 2017; Konarev et al., 2019). По-видимому, нейтральные протеазы, остающиеся в поврежденном клопами зерне после его созревания, играют основную разрушительную роль в отношении клейковины при замесе теста. Такая протеаза была

выделена из нескольких образцов поврежденного вредной черепашкой зерна пшеницы, собранных в России и Турции (Konarev et al., 2011). Молекулярная масса протеазы составляла около 28 кДа. Фермент специфично гидролизует пептидные связи между гекса- и нонапептидными повторами полипептидной цепи высокомолекулярных субъединиц глютеина с остатком глутамина в сайте гидролиза в позиции P1. По результатам частичного секвенирования выделенных из поврежденного клопом зерна изоформ нейтральных протеаз, а также клонирования отдельных соответствующих форм протеаз, синтезируемых в слюнных железах вредителя (Konarev et al., 2011) можно сделать вывод об их принадлежности к семейству пептидаз S1 (по классификации MEROPS), куда входят также хорошо охарактеризованные трипсины и химотрипсины членистоногих и млекопитающих.

Представляет интерес сопоставление данных по повреждению зерна вредной черепашкой и другими, в том числе таксономически удаленными клопами. Повреждение зерна пшеницы новозеландским клопом *N. huttoni* сопровождается разрушением высоко- и низкомолекулярных субъединиц глютеина, приводящим к ухудшению хлебопекарных качеств муки (Every et al., 1989). Из зерна пшеницы, сильно поврежденного клопом *N. huttoni*, была выделена протеаза, способная гидролизовать высокомолекулярные субъединицы глютеина пшеницы, сходные с ними секалины ржи и D-гордеина ячменя, а также β -казеин коровьего молока (Every et al., 2005). Протеаза оказалась специфичной к пептидным связям глютеина и β -казеина, образованным остатками глутамина в позиции P1. В полипептидной цепи глютеина, состоящей из многократно повторяющихся характерных гекса- и нонапептидов, гидролизовалась связь, расположенная в середине гексапептида (SGQ*GQP-GYYPTSLQQ). Близкая по свойствам протеаза, выделенная из зерна пшеницы, поврежденного вредной черепашкой, также гидролизовала связь, образованную остатком глутамина в позиции P1, но расположенную между гекса- и нонапептидными элементами (PGQGQQ*-GYYPTSLQQ) (Konarev et al., 2011). При этом было обнаружено, что при питании семенами других видов растений слюнные железы *N. huttoni* вырабатывают иные протеолитические ферменты, адекватные соответствующим запасным белкам (Every and Stufkens, 1999). Это может служить хорошей иллюстрацией высокой адаптационной способности пищеварительных систем клопов к виду пищи.

Нейтральная протеаза из поврежденных черепашкой зерен была частично секвенирована, что позволило клонировать последовательности ДНК клопа, кодирующие три изоформы фермента (gluten hydrolyzing proteinase, GHP1-GHP3) у особей из Ставропольского края, а также Самарской и Саратовской областей (Konarev et al., 2011). Форма GHP3 была экспрессирована в клетках бактерий, дрожжей (Долгих и др., 2014; Konarev et al., 2019) и насекомых (Долгих и др. 2020, неопубликованные данные). В серии исследований она использовалась в качестве модельного фермента. Антитела к протеазе GHP3, а также PCR-анализ подтвердили присутствие (и экспрессию) данного фермента в слюнных железах вредной черепашки (Konarev и др. 2017; Долгих и др., 2017; Amiri et al., 2016). GHP3 (G1), как и еще одна сериновая протеаза (Труп)

также синтезировались в кишечнике, причем при питании клопов зернами пшеницы уровень их экспрессии был существенно выше, чем в случае зерен других злаков (Amiri et al., 2016). Эти результаты указывают на вовлеченность GHP3 и Труп в пищеварение клопа.

Анализ данных с использованием сервера BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) показал, что протеаза GHP3 обладает относительно высокой (до 66%) гомологией с химотрипсиноподобными протеазами клопа *H. halys*, а также трипсиноподобными протеазами *L. lineolaris* и других клопов этого же рода (до 42%). Из протеаз млекопитающих наибольшую гомологию с GHP3 проявляют химотрипсиноподобные ферменты (до 37%). Наблюдалась также существенная гомология GHP3 с протеолитическими компонентами ядов, характерных для хищных клопов, например водяного клопа *Lethocerus distinctifemur* Menke (Belostomatidae).

Компьютерная модель, построенная на основе аминокислотной последовательности GHP3 и с использованием в качестве шаблона трипсиноподобной протеазы речного рака, показала, что, при общем сходстве структуры с известными сериновыми протеазами различных беспозвоночных, данный фермент клопа имеет ряд особенностей, по-видимому, отражающих его субстратную специфичность к белкам клейковины. Так, например, удлинен участок полипептидной цепи, образующий петлю, формирующую карман S4 активного центра и вовлеченную в связывание остатка глутамина в позиции P4 (Konarev et al., 2011). Подобные структурные особенности ферментов могут быть использованы при разработке специфичных ингибиторов нежелательных для человека гидролаз (см. ниже).

Методами иммуноблоттинга и иммунофлюоресцентной микроскопии с использованием антител к рекомбинантной форме протеазы GHP3 было установлено, что данный фермент синтезируется в слюнных железах вредной черепашки в форме неактивного зимогена и откладывается в секреторных гранулах (Конарев и др. 2017). Активация зимогена GHP3, как и у протеолитических ферментов ряда других видов насекомых *in vivo* происходит, судя по всему, под действием пока неизвестной эндогенной трипсиноподобной протеазы. В пользу этого говорят, в частности, данные по активации рекомбинантного зимогена GHP3 иммобилизованным трипсином (Конарев и др. 2017; Konarev et al., 2019). В лабораторных условиях активация происходит под действием иммобилизованного бычьего трипсина, гидролизующего пептидную связь между С-концевым остатком аргинина в составе пропептида и остатком изолейцина в N-концевой области последовательности зрелого фермента, характерной для сериновых протеаз (IVGG---). По-видимому, *in vivo* процесс активации имеет нейрогуморальную регуляцию и запускается при наличии соответствующего пищевого субстрата. Имеющиеся данные указывают на то, что подобные преобразования происходят и с щелочными протеазами слюнных желез вредной черепашки (Konarev et al., 2019). Активация зимогенов сериновых протеаз *in vivo* выполняет одну из ключевых функций трипсиноподобных ферментов как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных (Querino et al., 2020). Активирующее действие трипсина на зимогены пищеварительных протеаз *in vitro* показано

на разных видах насекомых (Vizioli et al., 2001). Подобные активирующие протеиназы играют важную роль в пищеварении и их подавление с использованием ингибиторов

рассматривается как одно из возможных направлений защиты растений (Parde, 2009).

Пролил-эндопептидазы

Использование синтетического субстрата benzyloxycarbonyl-Gly-Pro-p-nitroanilide (ZGPPNA) позволило обнаружить в поврежденном вредной черепашкой зерне протеазу, специфично гидролизующую пептидные связи, образованные с участием остатков пролина (Darkoh et al., 2010). Полноразмерная последовательность ДНК, кодирующая данную протеазу (пролил-эндопептидазу, spPER) была клонирована и экспрессирована в клетках *E.coli* (Yandamuri et al., 2014). Молекулярная масса фермента составила около 80 кДа. Наиболее близкой к spPER из известных протеаз по структуре оказалась пролил-специфичная протеаза из ракообразного *Daphnia pulex* Leydig (56% гомологии). 51% гомология с пролил-эндопротеазой из мозга свиньи позволила построить компьютерную 3D модель spPER. Последняя оказалась уникальным представителем семейства протеаз S9A, способным гидролизовать белки, размер которых превышает 30 кДа, что необычно для подобных ферментов из-за структурных особенностей их активного центра. Именно к таким белкам принадлежат глиадины и глютенины. Эта группа исследователей под руководством доктора В. Clack из Stephen F. Austin State University (США) считают spPER главным деструктивным для клейковины фактором, секретируемым вредной черепашкой в зерно пшеницы. Ими рассматриваются возможности ограничения активности данного фермента воздействием на содержащиеся в структуре гена spPER сайты, связывающие факторы транскрипции (Yandamuri et al., 2014) или конструированием специфичных пептидных ингибиторов, например, на основе пептидов – продуктов гидролиза казеина (Kadarkova et al., 2017). Подтверждена экспрессия пролил-специфичной протеазы в слюнных железах вредной черепашки (Konarev et al., 2019). С помощью нового метода идентификации в сочетании с ИЭФ белков выявлена активность такой протеазы в слюнных железах клопа и у ее экспрессированной рекомбинантной формы. Однако в этих же условиях активности пролил-специфичной протеазы в поврежденных вредной черепашкой зернах обнаружить не удалось. Эти результаты позволяют предположить, что spPER преимущественно активна при питании клопов эндоспермом, где она, возможно, способствует разжижению клейковины, но ее активность при

замесе теста из муки из поврежденных зерен, по-видимому, незначительна. Основную деструктивную роль здесь, видимо, играют «нейтральные» протеазы, сохраняющие активность в поврежденном зерне (Konarev et al., 2019).

Особенность пролил-специфичных протеаз, особенно широко распространенных у микроорганизмов, заключается в способности к глубокому гидролизу богатых пролином и глутамином белков клейковины. Обычные для человека протеазы типа трипсина и химотрипсина не способны гидролизовать такие пептидные связи и разрушают глиадины и глютенины до более крупных фрагментов. Пролин-богатые пептиды содержат множество иммуногенных эпитопов и способны инициировать в организме человека аутоиммунные и иные нежелательные реакции. Такие пептиды могут проявлять токсичность по отношению к страдающим опасным заболеванием – целиакией или более широкому кругу глютен-чувствительных людей (Caio et al., 2019; Shewty, 2019). Эффективного гидролиза клейковины до нетоксичных пептидов можно добиться с помощью пролил-эндопептидаз, например, из грибов или бактерий, в том числе рекомбинантных. Препараты протеаз различного происхождения, гидролизующих пептидные связи белков, образованные с участием остатков пролина и глутамин, предлагается использовать в форме добавок к пище, обезвреживающих клейковину (Piper et al., 2004; Stepniak et al., 2006; Amador et al., 2019). Подобные ферменты насекомых также представляют интерес как перспективные факторы обезвреживания клейковины (Kumar, 2016; Tereshchenkova et al., 2019). spPER и другие пролил-специфичные протеазы хлебных клопов тоже можно рассматривать в качестве перспективных «инструментов» для модификации клейковины. Разработан простой метод выявления пролил-специфичных протеаз, который может упростить анализ таких ферментов (Konarev et al., 2019). В свою очередь, «нейтральная» протеаза из поврежденных клопом зерен пшеницы также способна гидролизовать иммуногенные эпитопы белков клейковины, в частности, последовательность QGGYYPTS глютемина (Konarev et al., 2011), связанную с HLA-DQ8 формой целиакии (van de Wal et al., 1999).

Ингибиторы протеаз

Белковые ингибиторы выступают природными регуляторами активности протеаз у животных и растений (Мосолов, 1983). Широкое применение они нашли в медицине. На основе известных ингибиторов создаются формы, направленные на подавление протеаз патогенных бактерий, грибов, протистов и вирусов (Shamsi et al., 2016). Особое внимание уделяется разработке ингибиторов, позволяющих ограничивать нежелательную активность эндогенных протеолитических ферментов, вовлеченных в различные патологические процессы (Qiu et al., 2017; Riley et al., 2019). Ингибиторы – важный компонент иммунологической системы растений (Вилкова и Конарев, 2010; Конарев, 2017). В связи с этим на протяжении уже нескольких десятилетий большие надежды возлагаются

на ингибиторы в связи с потенциальной возможностью использовать их в сельском хозяйстве как средство борьбы с вредными для растений микроорганизмами и насекомыми (Ryan, 1990; Dunaevsky et al., 2005; Yarullina et al., 2016; Akbar et al., 2018; Singh et al., 2018; Cotabarren et al., 2020;). У живых организмов охарактеризовано около 100 типов белковых ингибиторов протеаз, отличающихся по структуре и механизмам действия (Rawlings et al., 2004, 2017). Из них у растений найдено более 12 типов (Bateman and James, 2011). Преимущества ингибиторов как средств защиты растений заключаются в их относительной специфичности, безопасности для человека и окружающей среды, а также то, что они входят в число естественных для живых организмов факторов, регулирующих активность

ферментов. Подавляя активность пищеварительных протеаз и затрудняя тем самым усвоение белков растений фитофагами, ингибиторы повышают их энергетические затраты на усвоение пищи и снижают жизнеспособность (Вилкова и Конарев, 2010). Однако следует учитывать, что системы пищеварительных ферментов у насекомых и ингибиторов у растений складывались в ходе длительной коэволюции этих организмов (Конарев, 2017; Konarev et al., 1996; Jongsma and Beekwilder, 2011). Существенным недостатком, сдерживающим практическое применение ингибиторов в сельском хозяйстве, служит то, что насекомые обладают рядом механизмов преодоления негативного для них воздействия ингибиторов (Jongsma and Bolter, 1997). Среди них – усиление экспрессии пищеварительных протеаз, экспрессия нечувствительных к ингибиторам форм этих протеаз, а также протеолитическое разрушение ингибиторов (Singh et al., 2018).

Воздействие ингибиторов из растений на насекомых может сводиться не только к простому ограничению активности пищеварительных протеаз, а быть гораздо сложнее. Понятна ситуация, когда белковые ингибиторы подавляют активность соответствующих протеаз и это приводит к снижению жизнеспособности или даже гибели фитофагов. Однако защитная функция ингибиторов может проявляться и более опосредовано. Так, тли, как и клопы, входящие в монофилетический (по данным секвенирования митохондриальных геномов, Li et al., 2015) отряд Hemiptera, как правило, питаются флоэмным соком растений, практически не содержащим белки. Соответственно у большинства видов тлей в пищеварительной системе отсутствуют или малоактивны протеазы. Однако присутствие в пище обладающих ингибиторной активностью к химотрипсину фрагментов ингибитора Баумана-Бирк приводило к повышенной смертности гороховой

тли *Acyrtosiphon pisum* Harris. При этом ингибиторы трипсина проявляли меньшее негативное воздействие на насекомых (Rahbé et al., 2003). Возможно, защитная роль ингибиторов в данном случае состоит в подавлении активности не пищеварительных протеаз, а каких-то других эндогенных химотрипсиноподобных ферментов, вовлеченных в метаболизм насекомого. В отличие от гороховой тли, у которой протеолитическая активность не выявлялась, у большой злаковой тли в кишечнике были активны цистеиновые и сериновые химотрипсиноподобные ферменты (Pyati et al., 2011). Однако, по мнению авторов, белковое питание не достаточно для этого фитофага и протеазы играют лишь вспомогательную роль. При этом даже при наличии в пище достаточного количества свободных аминокислот, присутствие ингибиторов оказывало негативное воздействие на тлей. По-видимому, и в этом случае мишенью для ингибиторов служили протеазы насекомого, участвующие в гидролизе собственных белков. Подобные эффекты ингибиторов протеаз могут проявляться и в отношении клопов. Слюнные железы и кишечника клопов из семейства Pentatomidae отличаются по составу протеаз, а сами протеазы из этих органов неодинаково реагируют с теми или иными белковыми ингибиторами (Lomate and Bonning, 2016). То же характерно и для протеаз вредной черепашки (Конарев и др., 2017; Amiri et al., 2016; Konarev et al., 2019). Многие авторы изучали взаимодействие различных белковых ингибиторов с протеазами черепашки (Sivri and Koksel, 2000; Hosseinineveh et al., 2009; Saadati et al., 2011; Mehrabadi et al., 2014; Olanca and Ozay, 2015), однако результаты их исследований довольно противоречивы. По-видимому, это отчасти связано со сложностью набора протеаз и меняющимся уровнем экспрессии его отдельных составляющих (Конарев и др. 2013; Konarev et al., 2019)

Перспективные пути создания эффективных ингибиторов протеаз хлебных клопов и других насекомых

Учитывая огромный позитивный потенциал данных защитных белков, усилия исследователей сегодня направлены на преодоление адаптации вредных насекомых к ингибиторам. Можно выделить несколько разрабатываемых ныне подходов (Shamsi et al., 2016; Singh et al., 2018; Clemente et al., 2019). Так, использование при создании устойчивых растений генов ингибиторов, с которыми данный вредитель в природе не встречался, может замедлить адаптацию. Также затрудняет приспособление внедрение генов двух и более структурно и эволюционно независимых ингибиторов протеиназ. Многообещающими были результаты экспериментов по параллельному использованию генов ингибиторов протеаз и других токсичных для насекомых белков, например, лектинов (Yu et al., 2014). Однако такие подходы требуют известной осторожности и детального анализа побочных воздействий токсичных белков на человека или энтомофагов, поскольку некоторые из них, в отличие от ингибиторов протеаз, потенциально небезопасны (Poulsen and Pedersen, 2010). Проще обстоит дело с использованием подобных сочетаний для технических культур. В качестве одного из пока немногочисленных примеров успешного применения упомянутой технологии можно упомянуть создание в Китае используемых на практике форм хлопчатника, в которые внедрили гены Bt-токсина и ингибитора трипсина (Gatehouse, 2011).

Возможно, более перспективным направлением станет конструирование специфичных ингибиторов протеаз вредных организмов с привлечением компьютерного моделирования и на основе известных природных форм данных белков. В пользу обоснованности такого подхода свидетельствует успешный опыт его применения в медицине при разработке средств терапии, нацеленных на подавление нежелательной активности протеаз патогенов или собственных ферментов организма человека (Кузнецова и др., 2016; Riley et al., 2019). Исходными формами для конструирования могут быть известные классические ингибиторы протеаз из животных и растений, продомены, блокирующие активный центр собственно протеаз в составе зимогенов, или белковые субстраты. Имеющиеся данные позволяют предполагать, что «нейтральные» протеазы, секретируемые вредной черепашкой в поврежденное зерно в наибольшей мере ответственны за повреждение клейковины при замесе теста (Конарев и др. 2014, 2017; Konarev et al., 2019). Особенность этих протеаз – очень низкая чувствительность к известным белковым ингибиторам. Применение высокочувствительных модификаций методов анализа взаимодействия нейтральных протеаз с различными типами ингибиторов из растений и животных позволило установить, что отдельные представители семейства ингибитора химотрипсина I из картофеля, в частности,

выделенные и изученные ранее (Konarev et al., 2002) ингибиторы из семян космеи (*Cosmos bipinnatus* Cav.) и ряда других сложноцветных, могут служить исходными формами для конструирования эффективных ингибиторов этих протеаз (Konarev et al., 2011; Конарев, 2019, неопубликованные данные). Активность «щелочных» протеаз, также присутствующих в поврежденных зернах и способных повреждать клейковину, подавляется рядом известных («стандартных») ингибиторов протеаз типа апротинина животных или соевого ингибитора трипсина (Konarev et al., 2019). Это упрощает подбор базовых форм для моделирования и конструирования. В. Clack и др., сосредоточившие внимание на пролил-специфичных пептидазах слюнных желез вредной черепашки (Yandamuri et al., 2014), предприняли попытку взять за основу фрагменты белка молока – казеина (Vishram and Clack, 2015; Kadakova, 2017), однако пока эта работа не получила продолжения.

В последнее время как в медицине, так и в защите растений интенсивно внедряются технологии, основанные на РНК-интерференции, позволяющие с помощью коротких фрагментов комплементарной РНК (двухцепочечной РНК, или dsRNA) блокировать активность определенных генов, в т.ч. протеаз (Thakur et al., 2016). К достоинствам данной технологии можно отнести возможность применения для подавления ключевых для жизнеспособности вредных организмов генов при доставке РНК как в форме аэрозоля, так и в виде добавки в корм. Подходы, использующие РНК-интерференцию, в ряде случаев могут рассматриваться как альтернатива трансгенным технологиям, использующим гены бактериальных токсинов, особенно в случае формирования резистентности к последним (Fishilevich et al., 2016). Такая РНК может вырабатываться и трансгенными растениями. Очень важен правильный выбор мишеней для РНК-интерференции. Мишени должны отвечать за жизненно важные для насекомого функции, в геноме не должно быть полностью дублирующих эти функции генов, а dsRNA должна обладать высокой избирательностью во избежание нежелательных для биоценоза последствий. Разрабатываются подходы к повышению эффективности подбора таких мишеней (Wang et al., 2011).

Известны примеры разработки технологии РНК-интерференции для борьбы с растительноядными клопами из рода *Lygus* путем подавления экспрессии генов-мишеней (Девген и др., 2018). Иранские исследователи продемонстрировали принципиальную возможность подавления жизнеспособности вредной черепашки путем блокирования экспрессии гена, кодирующего кишечную цистеиновую протеазу с помощью соответствующей dsRNA (Amiri et al., 2016). Недавно Amiri and Bandani (2020) провели подобную работу с гидролизующей клейковину (GH, gluten hydrolyzing) протеазой черепашки, идентичной описанной ранее протеазе GHP3 (Konarev et al., 2011, 2019; Долгих и др., 2014). Обработка личинок пятого возраста и имаго раствором dsRNA, комплементарной элементу последовательности гена протеазы GH, подавляла экспрессию последней в слюнных железах и кишечнике и вызывала нарушения в развитии личинок. Полученные этими авторами данные свидетельствуют о важной роли протеазы GH/GHP3 не только в пищеварении, но и других физиологических процессах в организме клопа.

Очевидно, что при разработке новых подходов к защите растений необходимо знание особенностей пищеварительной системы вредителя. Так, высокая нуклеазная активность в секрете слюнных желез клопов семейства Pentatomidae может понизить эффективность использования методов РНК-интерференции. Секрет слюнных желез клопа *H. halys* характеризуется высокой активностью различных РНКаз. РНКазы, специфичные к двухцепочечным РНК (ds RNases), как и ДНКазы, более активны в слюнных железах и их секрете, чем в кишечнике (Lomate and Bonning, 2018). В связи с этим возникает потребность в безопасных способах доставки специфичной dsRNA в кишечник (Cantón and Bonning, 2019).

Очевидно, что у технологии РНК-интерференции большое будущее в решении проблем защиты растений, в том числе и в отношении хлебных клопов. Однако следует учитывать, что применение таких средств еще до конца законодательно не отрегулировано. Так, зачастую полагают, что, поскольку обработка живых объектов препаратами dsRNA не создает новых или генетически модифицированных организмов, а сами dsRNA не наследуются и не служат мутагенами, данная технология не подпадает под существующие ограничения. Однако здесь все же необходима осторожность, поскольку долговременные последствия применения технологии РНК-интерференции для экосистем пока до конца не изучены (Heinemann, 2019; Liu et al., 2019).

Слабой стороной технологии, связанной с конструированием пептидных ингибиторов на основе известных форм данных белков, выступает довольно высокий консерватизм механизмов их действия, обусловленный консерватизмом структур протеаз, отвечающих за связывание субстрата. Следствие этого – широкий спектр возможных мишеней для нового ингибитора, помимо целевого фермента (Schneider et al., 2012). Альтернативой пептидным ингибиторам с классическим механизмом действия могут стать антитела. Уже накоплено немало примеров успешного применения антител для защиты растений от вредных организмов, в частности, от вирусов и грибов (Safarnejad et al., 2011, Peschen et al., 2016). Чрезвычайно высокая специфичность антител к отдельным участкам полипептидной цепи, в том числе, участвующим в связывании субстрата, открывает возможность создания узконаправленных ингибиторов протеаз, что уже находит применение в медицине (Lopez et al., 2019). Достоинство таких антител заключается в безопасности для человека и животных. Последовательности ДНК, кодирующие соответствующие антитела, в том числе их короткие производные – scFv-фрагменты (single-chain variable fragments), могут быть встроены в геном растения. В этом году показана принципиальная возможность подавления активности нейтральных протеаз слюнных желез вредной черепашки специфичными антителами. Были получены поликлональные антитела к рекомбинантному пептиду, соответствующему фрагменту полипептидной цепи протеазы GHP3, вовлеченному в формирование кармана S4 – подцентра связывания субстрата. Этот карман ответственен за связывание остатка глутамина в составе глютеина в позиции P4. Антитела, связываясь с данным фрагментом, блокируют доступ субстрата к активному центру протеазы и делают невозможным его гидролиз (Dolgikh et al., 2020).

Свойства клейковины, влияющие на ее устойчивость к протеазам хлебных клопов

Сорта пшеницы существенно отличаются по устойчивости клейковины к воздействию протеаз хлебных клопов. Во многом устойчивость определяется особенностями состава и свойств глютенинов (Sivri et al., 2002). Как известно, за наиболее важные хлебопекарные качества муки отвечают высокомолекулярные субъединицы глютенинов (Shewry and Halford, 2002). Интересно отметить, что со свойствами глютенинов связана не только устойчивость клейковины, но и полевая устойчивость самой пшеницы к данным вредителям (Werteker and Kramreither, 2008). Возможно, устойчивая к протеолизу клейковина малодоступна для всасывания, что и ограничивает повреждение зерна.

От действия протеаз вредителя, в первую очередь, страдают высокомолекулярные субъединицы глютенина (HMWG, high molecular weight glutenin). У разных сортов пшеницы электрофоретический спектр HMWG состоит из 3–5 компонентов. Спектры HMWG, как и глиадинов, генетически детерминированы и даже используются как удобные и информативные инструменты сортовой идентификации (Конарев, 1983). Fatehi et al. (2008) показали, что устойчивость сортов пшеницы к вредной черепашке

может коррелировать с компонентным составом HMWG. Выяснилось, что сочетание компонентов HMWG 7+8 и 2+12 положительно коррелирует с процентом поврежденных зерен, тогда как набор компонентов 7+9 и 12 отчетливо отрицательно коррелирует с данным показателем.

На устойчивость клейковины к различного рода повреждениям оказывают влияние и сортовые особенности глиадинов. Теняева (2004) предложила использовать определяемые электрофорезом в сочетании с денситометрией количественные и качественные характеристики компонентов спектров α - и ω -глиадинов в качестве маркеров устойчивости технологических, хлебопекарных свойств зерна разных сортов и биотипов озимой пшеницы к разрушительному действию протеаз хлебных клопов. Обнаружено, что даже отдельные биотипы в пределах одного сорта, идентифицируемые по спектрам данных глиадинов, могут заметно отличаться по уровню и характеру изменений хлебопекарных свойств муки из поврежденных вредной черепашкой зерен (Емельянов, 2008). По-видимому, использование устойчивых к воздействию протеаз клопов биотипов может содействовать созданию форм пшеницы с невосприимчивой к повреждению клейковиной.

Улучшители клейковины, поврежденной протеазами хлебных клопов

Само по себе употребление хлеба и других продуктов, приготовленных из поврежденного хлебными клопами зерна, безопасно для человека. Однако такое повреждение приводит как к снижению урожая пшеницы, так и к ухудшению качества муки, что выражается в размягчении и «расплывании» теста, его низкой устойчивости при брожении, повышенной липкости, выпекании хлеба с уменьшенными высотой и объемом, грубой коркой и неудовлетворительной структурой мякиша (Павлюшин и др. 2015; Dizlek, 2018). Сильное поражение зерна приводит к глубокому гидролизу белков, что может ограничивать пригодность использования такой муки для выпечки хлебобулочных изделий.

Многими исследователями показано, что, чем выше содержание поврежденных зерен, тем хуже качественные характеристики муки. При этом имеющиеся в литературе сведения относительно критичного для качества клейковины уровня повреждения зерна клопами сильно разнятся. Приводимые цифры колеблются от 0.3 до 15%, что может быть связано с особенностями видового или популяционного состава вредителей, а также их плотностью при повреждении, погодными условиями, доступностью воды, продолжительностью периода роста растений, фазой созревания зерен и степенью их высасывания, сортовыми особенностями кормового растения и т.д. (Конарев и др., 2013; Dizlek 2018). Важно отметить, что наличие, активность и компонентный состав протеаз хлебных клопов в поврежденном зерне существенно отличаются у разных образцов (Конарев и др., 2013; Konarev et al., 2019).

Уровень поврежденности может быть определен визуальными и инструментальными методами, однако потенциальная опасность для хлебопекарных качеств муки может быть оценена лишь с привлечением биохимических методов (см. раздел «диагностика») или непосредственно выпечкой. Разработаны и продолжают разрабатываться разнообразные технологические подходы к снижению

ущерба качеству клейковины или ее «укреплению». Так или иначе они направлены на снижение активности, в первую очередь, протеаз, а также других гидролаз вредителей, ограничение доступности белков муки для гидролиза данными ферментами или укрепление нарушенной протеазами пространственной белковой сети.

Среди путей к преодолению негативных последствий поражения зерна клопами, используемых в пищевых технологиях – подбор оптимальной влажности и температуры, добавление неповрежденной муки с сильной клейковиной, уменьшение продолжительности «отдыха» теста (и, видимо, в целом, сокращение времени между добавлением воды к муке и выпечкой, что должно ограничить эффект от действия протеаз), выбор типа выпекаемого изделия (печенье, крекеры или вафли, вместо хлеба) и т.д. (Dizlek and Özer et al., 2017).

Экстракты из шишек хмеля подавляли активность протеаз в муке из поврежденного зерна и улучшали характеристики клейковины (Olanca and Ozay, 2015). Можно отметить, что шишки хмеля давно и широко используются в медицине, пивоварении и хлебопечении, что может свидетельствовать о безопасности данной добавки для человека (Biendl and Pinzl, 2009; Irakli et al., 2019). Возможно, стабилизирующий эффект данного экстракта на клейковину связан с действием разнообразных веществ вторичного происхождения. Такие соединения могут непосредственно инактивировать протеазы, либо, связываясь с белками, ограничивать их доступность для гидролиза. Использование закваски на основе бактерий рода *Lactobacillus* также позволяет улучшить хлебопекарные качества муки из поврежденных вредной черепашкой зерен, что подтверждается и данными электрофореза запасных белков (Özülkü and Sivri Özay, 2020).

Выдерживание поврежденных клопами зерен при 55 °С в течение недели или при 70 °С в течение получаса приводило к снижению в них протеолитической активности

и улучшению технологических качеств муки (Ertugay et al., 1995; Türker and Elgün, 1998b). Качество клейковины и выпекаемого хлеба может быть улучшено обработкой в микроволновой печи в течение 2–3 минут (Türker and Elgün, 1998a).

Обнаружено, что обработка ультразвуком поврежденных клопами зерен существенно подавляет протеазы вредителя, улучшает показатели клейковины и не оказывает негативного влияния на качество клейковины из неповрежденных зерен (Durak et al., 2016). Добавление 1.5% муки из семян головчатки *Cephalaria syriaca* (L.) Roem. & Schult. к муке из поврежденных вредной черепашкой зерен пшеницы по данным оценки на фаринографе существенно улучшало реологические характеристики клейковины. Такая добавка традиционно используется в Турции для улучшения хлебопекарных качеств муки (Başar et al., 2016). Для восстановления вязкоэластичных свойств и газоудерживающей способности клейковины из поврежденных клопами зерен часто используют подходы, аналогичные тем, что обычно применяют для улучшения качества муки и теста, в т.ч. улучшители качества хлебобулочных изделий окислительного действия – кислород, пероксид водорода, персульфат аммония, бромат и иодат калия, диоксид хлора и т.д. На мукомольных предприятиях муку отбеливают хлором, оксидами азота, пероксидом бензоила и т.п. Следует отметить, что в разных странах перечни разрешенных для производства хлеба химикатов сильно разнятся и многие из перечисленных препаратов запрещены, например, в ЕС, из-за потенциальной канцерогенности. В США использование таких препаратов допускается только при строгом соблюдении установленных правил, обеспечивающем их относительную безвредность (Joys et al., 2009).

В России окислители давно используются в хлебопекарной промышленности для укрепления клейковины, повышения газоудерживающей способности теста и улучшения формоустойчивости заготовок. В настоящее время список разрешенных здесь окислителей также существенно ограничен. Среди наиболее употребляемых и безопасных можно назвать аскорбиновую кислоту. Последняя, как и другие окислители, способствуют формированию дисульфидных связей в клейковине, поврежденной протеазами вредной черепашки, и, укрепляя пространственную белковую сеть, снижают индекс деформации клейковины (ИДК) до необходимого уровня. Недостаток данного подхода заключается в том, что окислители, добавленные к муке, могут продолжать свое действие при ее последующем хранении на протяжении многих дней, что приводит к чрезмерному укреплению клейковины. Впрочем,

Протеазы в диагностике повреждения зерна хлебными клопами

В отличие от грызущих вредителей, у клопов, как и ряда других Hemiptera, основным фактором, разрушающим ткани растений, служат гидролазы, секретлируемые слюнными железами. Соответственно и методы диагностики повреждения основаны на выявлении морфологических признаков такого повреждения – в случае семян это их деформация, наличие точки в месте прокола, изменения в структуре эндосперма, вызванные действием α -амилазы, протеазы и т.д. Для выявления повреждения зерна пшеницы хлебными клопами разработаны или

существуют ферментные добавки, оптимизирующие газоудерживающую способность такого теста (Ковальчук, 2009). Качество хлеба из пораженной клопом-черепашкой пшеницы может быть существенно улучшено добавками органических кислот и ферментов, снижающих pH теста и инактивирующих ферменты вредителей (Dizlek, Özer, 2016). Такие добавки признаны не опасными для здоровья.

Катализируемое ферментами формирование ковалентных связей между полипептидными цепями, приводящее к укреплению белковой сети или образованию крупных белковых агрегатов, считается относительно безопасной альтернативой химическим улучшителям клейковины и находит широкое применение в пищевой промышленности. Так, трансглутаминазы (КФ 2.3.2.13) катализируют формирование в белках ковалентных связей между свободными аминогруппами, присущими, например, остаткам лизина, и остатками глутамина. Такие связи не поддаются гидролизу большинством протеолитических ферментов. Показана возможность «укрепления» клейковины из поврежденных клопами зерен и улучшения ее характеристик путем использования микробной трансглутаминазы (Bonet et al., 2005). Эффект достигается за счет образования перекрестных связей между полипептидными элементами клейковинных белков и формирования высокомолекулярных белковых агрегатов, что компенсирует последствия гидролиза белков протеазами вредителей. Трансглутаминазы широко используются в пищевых технологиях для улучшения функциональных свойств белков мяса, молочной сыворотки и сои (Yildirim and Hettiarachchy, 1997; Wang et al., 2018). Однако данный подход требует известной осторожности, поскольку трансглутаминаза 2 человека вовлечена в процесс иммунопатогенеза целиакии, а микробные трансглутаминазы выступают в качестве сильных аллергенов и также могут провоцировать целиакию (De Palma et al., 2014; Matthias et al., 2016).

Окислительно-восстановительные ферменты, в частности, глюкозооксидаза, гексоксидаза и лакказа также используются в качестве безопасных ингредиентов для укрепления клейковины, в том числе, из поврежденного протеазами вредной черепашки зерна (Bonet et al., 2007; Gradinaru et al., 2017; Armstrong et al., 2019; Mayolo-Delouis et al., 2020). Глюкозооксидаза катализирует окисление β -D-глюкозы в присутствии кислорода, продуцируя образование D-глюконовой кислоты и перекиси водорода, что способствует формированию дисульфидных или дитиозиновых мостиков между полипептидами. Отмечено стабилизирующее действие глюкозооксидазы, в первую очередь, на высокомолекулярные субъединицы глютенина поврежденного зерна пшеницы.

разрабатываются разнообразные методы, в том числе, визуальные, инструментальные – просмотр в видимом или инфракрасном свете (Вилкова и др., 1976; 2006, Singh et al., 2009; Armstrong et al., 2019), а также в других диапазонах электромагнитных волн (Архипов и др., 2017), в т.ч. с привлечением искусственного интеллекта (Sabancı, 2019). Следует учитывать, что морфологические признаки не всегда позволяют достоверно оценить природу и уровень повреждения. Несколько более информативны биохимические методы, например, выявление следов

гидролиза запасных белков зерна протеазами вредителя (Яковенко и др. 1978; Torbica et al., 2014; Olanca et al., 2016 и т.д.). Однако изменение морфологии семян или разрушение белков, приводящее к ослаблению или исчезновению электрофоретических компонентов спектра запасных белков может вызываться не только протеазами и другими гидролазами хлебных клопов, но и ферментами самого зерна при его прорастании или фитопатогенных грибов, например, при фузариозе (Гагкаева et al., 2011; Eggert et al., 2011). Более специфичные методы диагностики повреждения зерна пшеницы хлебными клопами, основанные на использовании антител к белкам слюнных желез (в значительной мере представляющих собой набор пищеварительных гидролаз), разрабатывались в нашей стране еще в 1970-х (Гаврилюк и др., 1975; Семенова и др. 1977). Попытки обратиться к этому подходу для анализа поврежденных семян пшеницы и других растений осуществлялись и в относительно недавнее время (Lait et al., 2003; Vaccino et al., 2016). То, что эти высокоспецифичные методы пока не получили широкого применения, может быть связано трудностями стандартизации получения антител. Возможно, что внедрение технологий моноклональных и одноцепочечных scFv-фрагментов антител (Долгих и др., 2017) позволит сделать иммунохимический подход к диагностике более доступным для практического применения. Разработка методов выявления гидролизующих клейковину протеаз с использованием субстратных реплик после изoeлектрического фокусирования (ИЭФ) белков поврежденного зерна или слюнных желез, открыла путь к новому более специфичному подходу к диагностике повреждения. После инкубации реплик, содержащих нерастворимый или растворимый в уксусной кислоте глютен, либо глиадин, в контакте с разделяющим гелем в случае присутствия в образце соответствующих протеаз, на репликах появляются отчетливые полосы гидролиза (Конарев и др. 2014, 2017; Долгих и др. 2014; Konarev et al., 2011, 2019; Konarev and Lovegrove, 2012). В результате получаются характерные для вредной черепашки и родственных ей клопов спектры полос гидролиза, отражающие спектры протеаз, которые могут быть использованы независимо или в качестве дополнения к традиционным критериям диагностики (Нейморовец и др., 2016; Вилкова

и др., 2018). Преимущество подобного биохимического подхода, по сравнению с интраскопическими методами, заключается в том, что первые выявляют повреждение зерна (и потенциальный ущерб качеству хлеба) по главному фактору вредности клопов – активным протеазам, а вторые – по результатам действия этих протеаз в созревающем зерне. В итоге, во многих образцах зерна с явными видимыми признаками повреждения клопами, активные протеазы отсутствуют. Отсутствие протеаз может быть обусловлено многими причинами – сортовыми особенностями зерна, фазой его развития в момент укола и т.д. В свою очередь хлебопекарному качеству муки угрожают преимущественно зерна, содержащие активные протеазы. При этом повреждение клопами, обусловленное целым рядом гидролаз (независимо от остаточного уровня протеаз в зрелом зерне), может оказывать негативное влияние на другие важные параметры урожая пшеницы, в том числе на всхожесть зерна, что заслуживает дальнейшего изучения (Капусткина и Нефедова, 2017). Представляется наиболее эффективным использование в качестве простых информативных дополнительных критериев диагностики повреждения зерна пшеницы хлебными клопами метода ИЭФ в комплексе с субстратными репликами в сочетании с микрометодом определения степени набухания клейковины в растворе ДСН. Последний довольно точно отражает степень повреждения клейковины протеазами. ИЭФ спектры гидролизующих клейковину протеаз могут существенно отличаться как между образцами поврежденного зерна, так и в пределах одного образца при анализе отдельных зерновок. Это может отражать как сортовые особенности зерна, так и популяционную изменчивость клопов (Конарев и др., 2013; Konarev et al., 2019). Недавно был предложен еще один вариант высокоспецифичной диагностики поврежденности зерен по активности протеаз клопов. Основываясь на полученных Konarev et al. (2011) данных по субстратной специфичности гидролизующей глютеин протеазы, выделенной из поврежденных вредной черепашкой зерен пшеницы, исследователи из Турции создали синтетические флуоресцентные субстраты, позволяющие оперативно выявлять протеазы вредителя (Hançerlioğulları et al., 2018).

Заключение

Знание особенностей пищеварительных систем растительноядных клопов, включая такого опасного вредителя пшеницы, как вредная черепашка, необходимо для разработки эффективных и безопасных средств борьбы с ними, а также подходов к снижению причиняемого ими ущерба качеству урожая. До сих пор наиболее распространены деструктивные для биосферы химические методы борьбы с вредной черепашкой. Существующие способы укрепления поврежденной клопами клейковины далеко не всегда безопасны. Белковые ингибиторы протеаз и других гидролаз могут рассматриваться в качестве перспективных элементов новых подходов к решению перечисленных

проблем. Пониженная чувствительность протеаз вредной черепашки к белковым ингибиторам может быть преодолена путем конструирования новых ингибиторов на основе их известных форм, а также с привлечением других высокоспецифичных технологий, включая использование антител к активным центрам ферментов или РНК-интерференцию. Тестирование протеаз хлебных клопов способно повысить эффективность диагностики повреждения зерна, а сами протеазы данных насекомых могут найти применение в пищевых технологиях для модификации клейковины, а также в медицине.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (проект № 18-08-00828 А)

Библиографический список (References)

Архипов МВ, Прияткин НС, Гусакова ЛП, Потрахов НН, Кропотов ГИ (2017) Неразрушающий контроль качества семян:

возможности и перспективы. *Труды Кубанского государственного аграрного университета* 66:20–27

- Буринская НВ (1985) Амилоза и амилопектин в крахмале пшениц, обладающих различной устойчивостью к вредной черепашке. В кн. Устойчивость с.х. растений к вредителям и проблемы защиты растений. Сб. науч. тр. Л.: ВИЗР, 1985 с.108–111.
- Бурлака ГА, Каплин ВГ (2015) Биоэкологическое обоснование защиты зерновых злаков от хлебных клопов (надсемейства Pentatomoidea) в лесостепи Среднего Поволжья [Электронный ресурс] Самара: РИЦ СГСХА. 145 с. <https://rucont.ru/efd/343267>
- Вилкова НА (1968) К физиологии питания вредной черепашки *Eurygaster integriceps* (Heteroptera, Scutelleridae). *Энтомологическое обозрение* 47(2):701–710
- Вилкова НА (1973) Питание вредной черепашки *Eurygaster integriceps* Put. на пшенице разных сортов. *Труды ВИЗР* 37:59–75.
- Вилкова НА (1979) Иммунитет растений к вредителям и его связь с пищевой специализацией насекомых-фитофагов. *Чтения памяти Н.А.Холодковского* 31:68–103.
- Вилкова НА (1980) Физиологические основы теории устойчивости растений к насекомым: Автореф. дисс. ... докт. с-х.н. Л. 49 с.
- Вилкова НА, Капусткина АВ, Конарев АВ, Фролов АН (2018) Проблемы диагностики поврежденности зерна пшеницы хлебными клопами. *Защита и карантин растений* 9:3–8
- Вилкова НА, Конарев АВ (2010) Современные проблемы иммунитета растений к вредителям. *Вестник защиты растений* 3:3–15.
- Вилкова НА, Нефедова ЛИ, Худяков СВ (2006) Способы диагностики поврежденности зерна сосущими вредителями. Патент на изобретение SU 2278502 (РФ)
- Вилкова НА, Шапиро ИД, Борщева ТА (1976) Использование инфракрасной микроскопии для диагностики повреждения и устойчивости зерновок к клопам. В сб.: Методы исследования патологических изменений в растении. М.: Колос. 216–219.
- Гаврилюк ИП, Конарев ВГ, Шапиро ИД, Вилкова НА, Семенова АЯ, Литвинов АМ (1975) Способ определения поврежденности зерна и муки пшеницы вредителями. Патент на изобретение SU 487627
- Гагкаева ТЮ, Гаврилова ОП, Левитин ММ, Новожилов КВ (2011) Фузариоз зерновых культур. *Защита и карантин растений* 5:69–120
- Девген НВ, Ноде Я, Рамакерс Р, Богарт Т (2018) Уменьшение экспрессии генов у насекомых-вредителей. Патент на изобретение 218.016.7A1F. <http://edrid.ru/rid/218.016.7A1F.html>
- Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Конарев АВ (2014) Получение и свойства рекомбинантных протеиназ *Eurygaster integriceps* Put., гидролизующих глютен. *Прикладная биохимия и микробиология* 50(5):466–474. <https://doi.org/10.7868/s0555109914040205>
- Долгих ВВ, Царев АА, Сендерский ИВ, Тимофеев СА, Конарев АВ (2017) Рекомбинантные одноцепочечные антитела как инструмент для выявления и изучения глютен-гидролизующих протеиназ клопа вредная черепашка (*Eurygaster integriceps* Put.). *Вестник защиты растений* 91(1):21–26
- Дубовский ИМ, Гризанова ЕВ, Боярищева ЕА, Исмаилов ВЯ, Глухов ВВ (2006) Изучение протеиназ в кишечнике имаго клопа вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. (Heteroptera, Scutelleridae) различных поколений. *Евразийский энтомологический журнал* 5(4): 271–275
- Емельянов НА (2008) Природа иммунитета пшеницы и возможности селекции устойчивых сортов к ферментам вредной черепашки (*Eurygaster integriceps* Put.) *Вестник Саратовского государственного университета им. Н.И.Вавилова* 5:16–19
- Капусткина АВ, Нефедова ЛИ (2017) Жизнеспособность семян при повреждении пшеницы вредной черепашкой. *Вестник защиты растений* 2(92):22–28
- Ковальчук Е (2009) Простой способ коррекции качества муки на мельницах. *Хлебопродукты* 10:40–41
- Конарев АлВ (1981) Специфичность альбуминов зерна пшеницы – ингибиторов α -амилаз к ферментам вредной черепашки. *Бюллетень ВИР* 114:30–32
- Конарев АлВ (1982а) Идентификация ингибиторов собственных и чужеродных α -амилаз среди белков зерна пшеницы. *Бюллетень ВИР* 118:11–12
- Конарев АлВ (1982б) Компонентный состав и генетический контроль ингибиторов α -амилаз насекомых из зерна пшениц и эгилопсов. *Доклады ВАСХНИЛ* 6:42–44
- Конарев АлВ (1982в) Природа ингибиторов α -амилаз в связи с проблемами эволюции и иммунитета пшеницы и других злаков. Дисс. ... к.б.н. Л. 170 с.
- Конарев АлВ (1985) Методы анализа компонентного состава ингибиторов α -амилаз и протеиназ у злаков. *Прикладная биохимия и микробиология* 21(1):92–100
- Конарев АлВ (1992) Системы ингибиторов гидролаз у злаков: организация, функции и эволюционная изменчивость. Дисс. ... д.б.н. М.: 356 с.
- Конарев АлВ (2017) Молекулярные аспекты иммунитета растений и их коэволюции с насекомыми. *Биосфера* 9(1):79–99. <https://doi.org/10.24855/biosfera.v9i1.325>
- Конарев АлВ, Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Конарев АВ, Капусткина АВ, Нефедова ЛИ, Губарева НК (2017) Иммунохимический анализ комплекса протеиназ клопа вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put., гидролизующих белки клейковины пшеницы. *Вестник защиты растений* 1:12–20
- Конарев АлВ, Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Нефедова ЛИ, Конарев АВ, Губарева НК (2014) Свойства нативных и рекомбинантных протеиназ слюнных желез клопа вредная черепашка (*Eurygaster integriceps* Put.), гидролизующих клейковину пшеницы. *Вестник защиты растений* 2:3–16
- Конарев АлВ, Конарев АВ, Нефедова ЛИ, Губарева НК, Озай ДС (2013) Анализ полиморфизма гидролизующих клейковину протеиназ в зерновках пшеницы, поврежденных вредной черепашкой *Eurygaster integriceps* Put. и родственными ей клопами. *Доклады РАСХН* 5: 7–11. <https://doi.org/10.3103/S1068367413060104>
- Конарев АлВ, Митрофанова ОП (1987) Анализ наследования компонентов ингибиторов α -амилаз и трипсина у мягкой пшеницы. *Цитология и генетика* 21(1): 15–18
- Конарев АлВ, Фомичева ЮВ (1991) Перекрестный анализ взаимодействия компонентов α -амилаз и протеиназ насекомых с белковыми ингибиторами из эндосперма пшеницы. *Биохимия* 56(4):628–638
- Конарев ВГ (1983) Белки растений как генетические маркеры. М.: Колос.; 320 с.
- Кузнецова СС, Колесанова ЕФ, Таланова АВ, Веселовский АВ (2016) Перспективы создания новых ингибиторов терапевтически значимых сериновых протеаз на основе кноттинов и пептидного ингибитора трипсина из семян подсолнечника (SFTI 1). *Биомедицинская химия*. 62(4):353–68. <http://doi.org/10.18097/PBMC20166204353>
- Мосолов ВВ (1983) Белковые ингибиторы как регуляторы процессов протеолиза. М.: Наука. 41 с.
- Нейморовец ВВ, Конарев АлВ, Нефедова ЛИ, Гричанов ИЯ (2016) Методы выявления повреждений колоса и зерен злаковых культур клопами-черепашками рода *Eurygaster* (обзор). *Защита и карантин растений* 2: 28–36
- Павлюшин ВА, Вилкова НА, Сухорученко ГИ, Нефедова ЛИ, Капусткина АВ (2015) Вредная черепашка и другие хлебные клопы. Санкт-Петербург: ВИЗР. 280 с.
- Рылько Д. Вред от черепашки. *Агроинвестор*. <https://www.agroinvestor.ru/markets/article/11707-vred-ot-cherepashki/> (11.06.2020)
- Семенова АЯ Вилкова НА, Гаврилюк ИП (1977) О специфичности белков слюнных желез некоторых хлебных клопов. *Труды Всесоюзного Научно-исследовательского института защиты растений* 36–38.

- Тянева ОЛ (2004) Глиадиновый комплекс зерна озимой пшеницы, устойчивой к вредной черепашке *Eurygaster integriceps* Put. *Дисс. ... к.с.-х.н.* Саратов. 175 с.
- Яковенко ВА, Литвинов АМ, Гаврилюк ИП (1978) Электрофоретическая характеристика белков пшеницы, пораженной клопом-черепашкой. *Известия вузов. Пищевая технология.* 3:16–19.
- Abdolahadi F, Mirmoayedi A, Seifikar M (2016) Inhibition of digestive α -amylase from *Eurygaster integriceps* (Sunn pest) by a proteinaceous extract from wheat varieties Bezostaya, Gaspard, and Darab. *J Fund Appl Sci* 8(2S):1759–1770. <http://dx.doi.org/10.4314/jfas.v8i2s.433>
- Akbar SMD, Jaba J, Regode V, Kumar GS, Sharma HC (2018) Plant protease inhibitors and their interactions with insect gut proteinases. In: *The biology of plant-insect interactions*. CRC Press. 1–47. ISBN: 978-1-4987-0973-6
- Aljaryian R, Kumar L, Taylor S (2016) Modelling the current and potential future distributions of the sunn pest *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) using CLIMEX. *Pest Manag Sci* 72: 1989–2000. <https://doi.org/10.1002/ps.4247>
- Allen ML, Mertens JA (2008) Molecular cloning and expression of three polygalacturonase cDNAs from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*. *J Insect Sci* 8(27):1–4. <https://doi.org/10.1673/031.008.2701>
- Amador MD, Arevalo-Rodriguez M, Durán EM, Reyes JC, Martin CS (2019) A new microbial gluten-degrading prolyl endopeptidase: Potential application in celiac disease to reduce gluten immunogenic peptides. *PLoS one* 14(6):e0218346. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218346>
- Amiri A, Bandani AR, Alizadeh H (2016) Molecular identification of cysteine and trypsin protease effect of different hosts on protease expression, and RNAi mediated silencing of cysteine protease gene in the Sunn pest. *Arch Insect Biochem Physiol.* 91(4):189–209. <https://doi.org/10.1002/arch.21311>
- Amiri A., Bandani A.R. (2020) Gluten hydrolase gene silencing using RNAi and its effect on the Sunn pest growth and development. *Phytoparasitica.* <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00821-8>
- Armentia A, Lombardero M, Martinez C, Barber D, Vega JM, Callejo A (2004) Occupational asthma due to grain pests *Eurygaster* and *Ephestia*. *J Asthma.* 41(1):99–107. <https://doi.org/10.1081/JAS-120026067>
- Armstrong P, Maghirang E, Ozulu M (2019) Determining damage levels in wheat caused by Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) using visible and near-infrared spectroscopy. *J. Cereal Sci* 86:102–107. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.003>
- Ary MB, Richardson M, Shewry PR (1989) Purification and characterization of an insect α -amylase inhibitor/endochitinase from seeds of Job's tears (*Coix lachryma-jobi*). *Biochim Biophys Acta Protein Struct Mol Enzymol* 999(3):260–266. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(89\)90007-1](https://doi.org/10.1016/0167-4838(89)90007-1)
- Azam A, Reza BA, Morteza A (2015) Molecular identification of sunn pest some vital genes and analysis effect of different hosts on polygalacturonase expression. *Mol Entomol* 6(4):1–9 <https://doi.org/10.5376/me.2015.06.0004>
- Bandani AR, Kazzazi M, Mehrabadi M (2009) Purification and characterization of midgut α -amylases of *Eurygaster integriceps*. *Entomol Sci* 12(1):25–32. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2009.00303.x>
- Barrett AJ, Rawlings ND, O'Brien EA (2001) The MEROPS database as a protease information system. *J Struct Biol* 134(2-3):95–102. <https://doi.org/10.1006/jsbi.2000.4332>
- Başar Ş, Karaoğlu MM, Boz H (2016) The effects of *Cephalaria syriaca* flour on the quality of Sunn pest (*Eurygaster Integriceps*)-damaged wheat. *J Food Qual* 39(1):13–24. <https://doi.org/10.1111/jfq.12176>
- Bateman KS, James MNG (2011) Plant protein proteinase inhibitors: structure and mechanism of inhibition. *Curr Protein Pept Sci* 12(5):341–347. <https://doi.org/10.2174/138920311796391124>
- Bezdi MS, Pourabad RF, Toorchi M, Zarghami N, Komatsu S (2012) Protein patterns in the salivary gland of the sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Put.)(Hemiptera: Scutelleridae). *Turk Entomol Derg* 36(2):215–223
- Biendl M, Pinzl C (2009) Hops and health. *MBAA TQ* 46:1–7. <https://doi.org/10.1094/TQ-46-2-0416-01>
- Bonet A, Caballero PA, Gómez M, Rosell CM (2005) Microbial transglutaminase as a tool to restore the functionality of gluten from insect-damaged wheat. *Cereal Chem* 82(4):425–430. <https://doi.org/10.1094/CC-82-0425>
- Bonet A., Rosell CM, Pérez-Munuera I, Hernando I (2007). Rebuilding gluten network of damaged wheat by means of glucose oxidase treatment. *J Sci Food Agric* 87(7):1301–1307. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2846>
- Buonocore V, Petrucci T, Silano, V (1977) Wheat protein inhibitors of α -amylase. *Phytochemistry* 16(7):811–820. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86672-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86672-8)
- Burton RA, Fincher GB (2014) Evolution and development of cell walls in cereal grains. *Front Plant Sci* 5:456. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00456>
- Caio G, Volta U, Sapone A, Leffler DA, De Giorgio R, Catassi C, Fasano A. Celiac disease: a comprehensive current review. *BMC Med* (2019) 17(1):1–20. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1380-z>
- Cantón PE, Bonning BC (2019) Proteases and nucleases across midgut tissues of *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) display distinct activity profiles that are conserved through life stages. *J Insect Physiol* 119:103965. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.103965>
- Chateigner-Boutin AL, Bouchet B, Alvarado C, Bakan B, Guillon F (2014) The wheat grain contains pectic domains exhibiting specific spatial and development-associated distribution. *PLoS One* 9(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089620>
- Chaudhary A, Bala K, Thakur S, Kamboj R, Dumra N (2018) Plant defenses against herbivorous insects: A Review. *IJCS* 6(5):681–688. <https://www.researchgate.net/publication/327703671>
- Clemente M, Corigliano MG, Pariani SA, Sánchez-López EF, Sander VA, Ramos-Duarte VA (2019) Plant serine protease inhibitors: biotechnology application in agriculture and molecular farming. *Int J Mol Sci* 20(6):1345. <https://doi.org/10.3390/ijms20061345>
- Cohen AC (1998) Solid-to-liquid feeding: the inside (s) story of extraoral digestion in predaceous Arthropoda. *Am. Entomol.* 44:103–117. <https://doi.org/10.1093/ae/44.2.103>
- Cooper WR, Nicholson SJ, Puterka GJ (2013) Salivary proteins of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) *Ann Entomol Soc Am* 106(1):86–92. <http://dx.doi.org/10.1603/ANI12096>
- Cotabarren J, Lufraño D, Parisi MG and Obregón WD (2020) Biotechnological, biomedical, and agronomical applications of plant protease inhibitors with high stability: A systematic review. *Plant Science* 110398. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110398>
- Critchley BR (1998). Literature review of sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera, Scutelleridae). *Crop Prot* 17:271–287. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00022-2](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00022-2)
- Da Lage JL (2018) The amylases of insects. *International journal of insect science* 10:1–14. <https://doi.org/10.1177/117954331880478>
- Da Lage J-L, van Wormhoudt A, Cariou M-L (2002) Diversity and evolution of the α -amylase genes in animals. *Biol Bratisl* 57 (Suppl. 11):181–189.
- Darkoh C, El-Bouhssini M, Baum M, Clack B (2010) Characterization of a prolyl endopeptidase from *Eurygaster integriceps* Puton (Sunn pest) infested wheat. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 74(3):163–178. <https://doi.org/10.1002/arch.20370>
- Davari A, Parker BL (2018) A review of research on Sunn Pest {*Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae)} management published 2004–2016. *J Asia Pac Entomol* 21(1):352–360. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.01.016>
- De Palma G, Apostoli P., Mistrello G, Zanotta S, Bertorelli G (2014) Microbial transglutaminase: a new and emerging occupational allergen. *Ann Allerg Asthma Im* 112(6):553–554. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2014.03.012>

- Dizlek H (2018) A biochemical factor that significantly disrupt the wheat quality: insect enzyme salivary. In: 2nd International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology (ICABB), Podgorica, Montenegro, 26–30 June 2018. Book of Proceedings. 33–35
- Dizlek H, Özer MS (2016) Effects of sunn pest (*Eurygaster integriceps*) damage ratio on physical, chemical, and technological characteristics of wheat. *Qual Assur Saf Crops Foods* 8(1):145–156. <https://dx.doi.org/10.5073/JABFQ.2015.088.003>
- Dizlek H, Özer MS (2017) Improvement of physical, physicochemical, and rheological characteristics of sunn pest (*Eurygaster integriceps*) damaged wheat by blending. *Qual Assur Saf Crop Foods* 9(1):31–39. <https://dx.doi.org/10.3920/QAS2015.0781>
- Dolgikh V, Tsarev A, Timofeev S, Zhuravlyov V, Senderskiy I, Lovegrove A, Konarev A (2020) Antibodies raised against a Sunn bug (*Eurygaster integriceps* Put.) recombinant protease rGHP3p2, can inhibit gluten hydrolyzing activity // *Food Sci Nutr* 8(1):703–708. <https://dx.doi.org/10.1002/fsn3.1361>
- D'Ovidio R, Raiola A, Capodicasa C, Devoto A, Pontiggia D, Roberti S, Galletti R, Conti E, O'Sullivan D, De Lorenzo G (2004) Characterization of the complex locus of bean encoding polygalacturonase-inhibiting proteins reveals subfunctionalization for defense against fungi and insects. *Plant Physiol* 135(4):2424–2435. <https://dx.doi.org/10.1104/pp.104.044644>
- Dumont F, Lucas E, Reale D (2017) Coexistence of zoophytophagous and phytozoophagous strategies linked to genotypic diet specialization in plant bug. *PLoS one*. 12(5):e0176369. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0176369>
- Dunaevsky YE, Elpidina EN, Vinokurov KS, Belozersky MA (2005) Protease inhibitors in improvement of plant resistance to pathogens and insects. *Mol Biol* 39(4):608–613.
- Durak AN, Erbas M, Arslan S. (2016) Ultrasonication to inactivate the proteolytic enzymes in sunn bug damaged wheat. *J Cereal Sci* 71 122e129. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2016.07.014>
- Eggert K, Rawel HM, Pawelzik E (2011) In vitro degradation of wheat gluten fractions by *Fusarium graminearum* proteases. [Электронный ресурс] *Eur Food Res Technol* 233(4):697. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1566-x>
- Ertugay Z, Celik I, Elgun A, Ertugay M.F (1995) The application of different tempering methods to Sunn pest (*Eurygaster* spp.) damaged and undamaged wheat III: effect on bread properties. *World of Flour Products* 4:10–16.
- Every D, Farrell JA, Stufkens MW (1989) Effect of *Nysius huttoni* on the protein and baking properties of two New Zealand wheat cultivars. *N Z J Crop Hortic Sci* 17(1):55–60. <http://dx.doi.org/10.1080/01140671.1989.10428010>
- Every D, Farrell JA, Stufkens MW (1992) Bug damage in New Zealand wheat grain: the role of various heteropterous insects. *N Z J Crop Hortic Sci* 20(3):305–312. <https://doi.org/10.1080/01140671.1992.10421772>
- Every D, Stufkens MA (1999) Effect of the salivary proteinase from the New Zealand wheat bug, *Nysius huttoni*, on various exotic and endemic plant seeds. *N Z J Crop Hortic Sci* 27(3):191–196 <https://doi.org/10.1080/01140671.1999.9514096>
- Every D, Sutton KH, Shewry PR, Tatham AS, Coolbear T (2005) Specificity of action of an insect proteinase purified from wheat grain infested by the New Zealand wheat bug, *Nysius huttoni*. *J Cereal Sci* 42:185–191. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.04.003>
- Farhoodi N, Kazzazi M, Hosseiniaveh V, Arezi I (2019) Inhibitory effect of proteinaceous seed extract of three Iranian wheat cultivars on *Eurygaster integriceps* (Sunn pest) digestive enzymes. *Arch Phytopathol Pflanzenschutz* 52(15-16):1177–1192. <https://doi.org/10.1080/03235408.2019.1693886>
- Fatehi F, Behamta MR, Zali AA (2008) Evaluating the resistance to sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put) and its relationship with high-molecular-weight glutenin subunit in wheat. In Proceedings of 11th International Wheat Genetics Symposium 2008, Brisbane, Australia, 24–29 August 2008. <http://hdl.handle.net/2123/318>.
- Fialho MC, Moreira NR, Zanuncio JC, Ribeiro AF, Terra WR, Serrão JE (2012) Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *J Insect Physiol* 58(6):850–856. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2012.03.009>
- Fishilevich E, Vélez AM, Storer NP, Li H, Bowling AJ, Rangasamy M, Worden SE, Narva KE, Siegfried BD (2016) RNAi as a management tool for the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*. *Pest Manag Sci* 72(9):1652–1663. <https://doi.org/10.1002/ps.4324>
- Franco OL, Rigden DJ, Melo FR, Bloch C Jr, Silva CP, Grossi de, Sa MF (2000) Activity of wheat α -amylase inhibitors towards bruchid α -amylases and structural explanation of observed specificities. *Eur J Biochem* 267:2166–2173. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01199.x>
- Franco OL, Rigden DJ, Melo FR, Grossi-de-Sá MF (2002) Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases: Structure, function and potential for crop protection. *Eur J Biochem* 269(2):397–412. <https://doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02656.x>
- Fрати F, Galletti R, De Lorenzo G, Salerno G, Conti E (2006) Activity of endo-polygalacturonases in mirid bugs (Heteroptera: Miridae) and their inhibition by plant cell wall proteins (PGIPs). *Eur J Entomol* Jul 1;103(3):515. <https://dx.doi.org/10.14411/eje.2006.067>
- Gatehouse AJ (2011) Prospects for using proteinase inhibitors to protect transgenic plants against attack by herbivorous insects. *Curr Protein Pept Sci* 12(5):409–416. <https://doi.org/10.2174/138920311796391142>
- Ghamari M, Hosseiniaveh V, Darvishzadeh A, Chougule NP (2014) Carbohydrases in the digestive system of the spined soldier bug, *Podisus maculiventris* (Say) (Hemiptera: Pentatomidae). *Arch Insect Biochem Physiol* 85:195–215. <https://doi.org/10.1002/arch.21153>
- Giron D, Dedeine F, Dubreuil G, Huguet E, Mouton L, Outreman Y, Vavre F, Simon JC (2017) Influence of microbial symbionts on plant-insect interactions. *Adv Bot Res* 81: 225–257. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2016.09.007>
- Gradinaru C.L, Ulea E, Lipsa FD, Florea AM (2017) Correction of low values of gluten power (W value) due to the Sunn pest attack. *Agronomy Series of Scientific Research/Lucrari Stiintifice Seria Agronomie*, 60(2):51–56
- Hançerlioğulları BZ, Köksel H, Dudak FC (2018) Development of a peptide substrate for detection of sunn pest damage in wheat flour. *J Sci Food Agric* 98(15):5677–5682. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9113>
- Heinemann JA (2019) Should dsRNA treatments applied in outdoor environments be regulated? *Environ Int* 132:104856. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.050>
- Hosseiniaveh V, Bandani A, Hosseiniaveh F, Cohen A (2009) Digestive proteolytic activity in the Sunn pest, *Eurygaster integriceps*. *J Insect Sci* 9(1). Article 70. <https://doi.org/10.1673/031.009.7001>
- Irakli M, Mygdalia A, Chatzopoulou P, Katsantonis D (2019) Impact of the combination of sourdough fermentation and hop extract addition on baking properties, antioxidant capacity and phenolics bioaccessibility of rice bran-enhanced bread. *Food Chem* 285:231–239. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.145>
- James M, Denyer K, Myers A (2003) Starch synthesis in the cereal endosperm. *Curr Opin Plant Biol* 6: 215–222. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(03\)00042-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(03)00042-6)
- Jongsma MA, Beekwilder J (2011) Co-evolution of insect proteases and plant protease inhibitors. *Curr Protein Pept Sci* 12(5):437–47. <https://doi.org/10.2174/138920311796391115>
- Jongsma MA, Bolter C (1997) The adaptation of insects to plant protease inhibitors. *J. Insect Physiol* 43(10):885–895. [https://doi.org/10.1016/S0022-1910\(97\)00040-1](https://doi.org/10.1016/S0022-1910(97)00040-1)
- Joye IJ, Lagrain B, Delcour JA (2009) Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking—A review. *J. Cereal Sci* 50(1):11–21. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2009.04.001>

- Kadakova P (2017) Inhibition of *Eurygaster integriceps* Puton prolyl endoprotease (spPEP) and human prolyl endopeptidase (hPEP) using α S1-casein peptide inhibitors. *FASEB J* (1_supplement): Abstract Number: 918.11
- Kafil M, Bandani AR, Kaltenpoth M, Goldansaz SH, Alavi SM, Miller T (2013) Role of symbiotic bacteria in the growth and development of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps*. *J Insect Sci* 13(1). <https://doi.org/10.1673/031.013.9901>
- Kannan M, Mubarakali D, Thiyonila B, Krishnan M, Padmanaban B, Shantkriti S (2019) Insect gut as a bioresource for potential enzymes-an unexploited area for industrial biotechnology. *Biocatal Agric Biotechnol* 18:101010. <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2019.01.048>
- Katoch R, Tripathi A, Thakur N (2016) Current perspective of plant protection strategies using inhibitory proteins against insects. *Indian J Agric Biochem* 29(2):124–133. [10.5958/0974-4479.2016.00021.6](https://doi.org/10.5958/0974-4479.2016.00021.6)
- Kirsch R, Gramzow L, Theißen G, Siegfried BD, Heckel DG, Pauchet Y (2014) Horizontal gene transfer and functional diversification of plant cell wall degrading polygalacturonases: key events in the evolution of herbivory in beetles. *Insect Biochem Mol Biol* 52:33–50. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2014.06.008>
- Kluch I, Horn M, Hýblová J, Hubert J, Dolečková-Marešová L, Voburka Z, Kudliková I, Kocourek F, Mareš M (2005) Inhibitory specificity and insecticidal selectivity of α -amylase inhibitor from *Phaseolus vulgaris*. *Phytochemistry* 66(1):31–39. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.11.001>
- Konarev A, Dolgikh V, Senderskiy I, Konarev A, Kapustkina A, Lovegrove A (2019) Characterisation of proteolytic enzymes of *Eurygaster integriceps* Put.(Sunn bug), a major pest of cereals. *J Asia Pac Entomol*. 22(1):379–85. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.001>
- Konarev A.I.V., Tomooka N., Ishimoto M., and Vaughan D.A. (1999a) Variability of the inhibitors of serine, cysteine proteinases and insect α -amylases in *Vigna* and *Phaseolus*. In: G.T.S.Mugnozza, E.Porceddu & M.A.Pagnotta ed. “Genetics and breeding for crop quality and resistance” Proc. of the XV EUCARPIA Congress, Viterbo, Italy, September 20–25, 1998. Kluwer Academic Publishers, NL, 173–181.
- Konarev AV (1996) Interaction of insect digestive enzymes with plant protein inhibitors and host-parasite coevolution. *Euphytica* 92(1-2):89–94. <https://doi.org/10.1007/BF00022833>
- Konarev AV, Anisimova IN, Gavrilova VA, Vachrusheva TE, Konechnaya GY, Lewis M, Shewry PR (2002) Serine proteinase inhibitors in the Compositae: distribution, polymorphism and properties. *Phytochemistry* 59(3):279–91. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00463-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00463-0)
- Konarev AV, Beaudoin F, Marsh J, Vilkova NA, Nefedova LI, Sivri D, Koksel H, Shewry PR, Lovegrove A (2011) Characterization of a glutenin-specific serine proteinase of Sunn bug *Eurygaster integriceps* Put. *J Agric Food Chem* 59(6):2462–2470. <https://doi.org/10.1021/jf103867g>
- Konarev AV, Lovegrove A (2012) Novel detection methods used in conjunction with affinity chromatography for the identification and purification of hydrolytic enzymes or enzyme inhibitors from insects and plants. In: Magdeldin S. (ed) Affinity Chromatography. InTech. 187–210.
- Kretovich VL (1944) Biochemistry of the damage to grain by the wheat-bug. *Cereal Chem* 21:1–16.
- Kumar P (inventor), Alvine Pharmaceuticals Inc (assignee) (2016) Proteases for degrading gluten. United States patent US 9267128
- Lait CG, Miller DR, Bates SL, Borden JH, Kermod AR (2003) Biochemical assay detects feeding damage to loblolly pine seeds caused by the leaf-footed pine seed bug (Hemiptera: Coreidae). *J Entomol Sci* 38(4):644–653. <https://doi.org/10.18474/0749-8004-38.4.644>
- Li W, Zhao X, Yuan W, Wu K (2017) Activities of digestive enzymes in the omnivorous pest *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae) *J. Econ. Entomol* 110(1):101–110. <https://doi.org/10.1093/jee/tow263>
- Li H, Shao R, Song N, Song F, Jiang P, Li Z, Cai W (2015) Higher-level phylogeny of paraneopteran insects inferred from mitochondrial genome sequences. *Sci Rep* 5:8527. <https://doi.org/10.1038/srep08527>
- Liu S, Jaouannet M, Dempsey DM, Imani J, Coustau C, Kogel KH (2019) RNA-based technologies for insect control in plant production. *Biotechnol Adv* 31:107463. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107463>
- Lomate PR, Bonning BC (2016) Distinct properties of proteases and nucleases in the gut, salivary gland and saliva of southern green stink bug, *Nezara viridula*. *Sci Rep* 6(1):1–10. <https://doi.org/10.1038/srep27587>
- Lomate PR, Bonning BC (2018) Proteases and nucleases involved in the biphasic digestion process of the brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). *Arch Insect Biochem Physiol* 98(3):e21459. <https://doi.org/10.1002/arch.21459>
- Lomate PR, Dewangan V, Mahajan NS, Kumar Y, Kulkarni A, Wang L, Saxena S, Gupta VS, Giri AP (2018) Integrated transcriptomic and proteomic analyses suggest the participation of endogenous protease inhibitors in the regulation of protease gene expression in *Helicoverpa armigera*. *Mol Cell Proteomics* 17(7):1324–1336. <https://doi.org/10.1074/mcp.RA117.000533>
- Lopez T, Mustafa Z, Chen C, Lee KB, Ramirez A, Benitez C, Luo X, Ji RR, Ge X (2019) Functional selection of protease inhibitory antibodies. *PNAS* 116(33):16314–16319. <https://doi.org/10.1073/pnas.1903330116>
- Lyons A, Richardson M, Tatham AS, Shewry PR (1987) Characterization of homologous inhibitors of trypsin and α -amylase from seeds of rye (*Secale cereale* L.). *BBA Protein Struct Mol Enzymol* 915(2):305–313. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(87\)90314-1](https://doi.org/10.1016/0167-4838(87)90314-1)
- Matthias T, Jeremias P, Neidhöfer S, Lerner A (2016). The industrial food additive, microbial transglutaminase, mimics tissue transglutaminase and is immunogenic in celiac disease patients. *Autoimmun Rev* 15(12), 1111–1119. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2016.09.011>
- Mayolo-Delouis K, González-González M, Rito-Palomares M (2020) Laccases in Food Industry: Bioprocessing, Potential Industrial and Biotechnological Applications. *Front Bioeng Biotech* 8:222. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00222>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Dastranj M (2014) Salivary digestive enzymes of the wheat bug, *Eurygaster integriceps* (Insecta: Hemiptera: Scutelleridae). *C R Biol* 337(6):373–382. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.04.003>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Mehrabadi R, Alizadeh H (2012) Inhibitory activity of proteinaceous α -amylase inhibitors from Triticale seeds against *Eurygaster integriceps* salivary α -amylases: Interaction of the inhibitors and the insect digestive enzymes. *Pestic Biochem Phys* 102(3):220–228. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.01.008>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Saadati F (2010) Inhibition of Sunn pest, *Eurygaster integriceps*, α -amylases by α -amylase inhibitors (T- α AI) from Triticale. *J Insect Sci* 10(1): 179. <https://doi.org/10.1673/031.010.14139>
- Mika N, Zorn H, Rühl M (2013) Insect-derived enzymes: a treasure for industrial biotechnology and food biotechnology. In *Yellow Biotechnology II*, Berlin: Springer. 1–17. https://doi.org/10.1007/10_2013_204
- Neimorovets V (2020) Review of the genus *Eurygaster* (Hemiptera: Heteroptera: Scutelleridae) of Russia. *Zootaxa*. 4722(6):501–539. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4722.6.1>
- Ohtsubo KI, Richardson M (1992). The amino acid sequence of a 20 kDa bifunctional subtilisin/ α -amylase inhibitor from brain of rice (*Oryza saliva* L.) seeds. *FEBS Lett* 309(1):68–72. [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80741-X](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80741-X)
- Olanca B, Koksel H, Ozderen NT, Ozay DS (2016) Determination of wheat bug (*Eurygaster* spp.) damage in durum wheat (*Triticum durum* L.) by electrophoresis and rapid visco analyser *J Cereal Sci* 72:69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.10.001>

- Olanca B, Özay DS (2010) Preparation and functional properties of gluten hydrolysates with wheat-bug (*Eurygaster* spp.) protease. *Cereal Chem* 87(6):518–523. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-02-10-0026>
- Olanca B, Ozay DS (2015) Effects of natural protease inhibitors on high protease activity flours. *J Cereal Sci* 65:290–297. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.08.007>
- Oliveira AS, Xavier-Filho J, Sales MP (2003) Cysteine proteinases and cystatins. *Braz Arch Biol Technol* 46:91–104. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132003000100014>
- Özülkü G, Sivri Özay D (2020) Improving the bread quality of suni-bug damaged wheat flours by sourdough breadmaking and liquid rye sour. *Acta Aliment* 49(2):170–180. <https://doi.org/10.1556/066.2020.49.2.6>
- Parde VD (2009) Inhibition of *Helicoverpa armigera* gut zymogen activation by plant protease inhibitors *PhD Thesis* Dr. Babasaheb Ambedkar Marathwada University. 204 p. http://oar.icrisat.org/128/1/merged_document-3.pdf (Accessed 04.06.2020)
- Parker BL, Amir-Maafi M, Skinner M, Kim J, EL-Bouhssini M (2011) Distribution of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae), in overwintering sites. *J Asia Pac Entomol* 14(1):83–88. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.10.005>
- Pauchet Y, Wilkinson P, Chauhan R (2010) Diversity of beetle genes encoding novel plant cell wall degrading enzymes. *PLoS one* 5(12):e15635. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015635>
- Pauly M, Keegstra K (2008) Cell-wall carbohydrates and their modification as a resource for biofuels. *Plant J* 54(4):559–568. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03463.x>
- Peschen D., Schillberg S., Fischer R. (2016) Antibody-mediated pathogen resistance in plants. In: MacDonald J., Kolotilin I., Menassa R. (eds) *Recombinant Proteins from Plants*. Methods in Molecular Biology. 1385 New York: Humana Press. 273–291. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3289-4_19
- Philippis-Wiemann P (2018) Proteases—human food. In: *Enzymes in Human and Animal Nutrition*. Academic Press. 267–277. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805419-2.00013-7>
- Piper JL, Gray GM, Khosla C (2004) Effect of prolyl endopeptidase on digestive-resistant gliadin peptides in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 311(1):213–219. <https://doi.org/10.1124/jpet.104.068429>
- Poulsen M, Pedersen JW (2010) Assessing biosafety of GM plants containing lectins. In D Hemming (ed) *Animal Science Review 2010*. UK. CAB International. 165–170
- Pyati P, Bandani AR, Fitches E, Gatehouse JA (2011) Protein digestion in cereal aphids (*Sitobion avenae*) as a target for plant defence by endogenous proteinase inhibitors. *J Insect Physiol* 57(7):881–891. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2011.03.024>
- Pytelkova J, Hubert J, Lepšík M, Šobotník J, Šindelka R, Křížková I, Horn M, Mareš M (2009) Digestive α -amylases of the flour moth *Ephestia kuehniella* – adaptation to alkaline environment and plant inhibitors. *FEBS J* 276(13):3531–46. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07074.x>
- Qiu Y, Taichi M, Wei N, Yang H, Luo KQ, Tam JP (2017) An orally active bradykinin B1 receptor antagonist engineered as a bifunctional chimera of sunflower trypsin inhibitor. *J Med Chem* 60(1):504–510. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b01011>
- Querino LAM, Fonseca NJ, de Oliveira LC, Lobo FP, Bleicher L (2020) Coevolved positions represent key functional properties in the trypsin-like serine proteases protein family. *J Chem Inf Model* 60(2):1060–1068. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00903>
- Rahbé Y, Ferrasson E, Rabesona H, Quillien L (2003) Toxicity to the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* of anti-chymotrypsin isoforms and fragments of Bowman–Birk protease inhibitors from pea seeds. *Insect Biochem Mol Biol* 33(3):299–306. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(02\)00244-8](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00244-8)
- Ramzi S, Zibae A (2016) α -amylase activity in the salivary glands and the midgut of *Apodiphus amygdali* Germar (Hemiptera: Pentatomidae). *TJS* 14(2):183–189. <https://doi.org/10.15547/tjs.2016.02.011>
- Rathinam M, Rao U, Sreevathsa R (2020) Novel biotechnological strategies to combat biotic stresses: polygalacturonase inhibitor (PGIP) proteins as a promising comprehensive option. *Appl Microbiol Biotechnol* 104(6):2333–2342. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10396-3>
- Ravan S, Mehrabadi M, Bandani AR (2009) Biochemical characterization of digestive amylase of wheat bug, *Eurygaster maura* (Hemiptera: Scutelleridae). *Afric J Biotech* 8:3640–3648.
- Rawlings ND, Barrett AJ, Thomas PD, Huang X, Bateman A, Finn RD (2017) The MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors in and a comparison with peptidases in the PANTHER database. *Nucleic Acids Res* 46(D1):D624–632. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1134>.
- Rawlings ND, Bateman A (2019) Origins of peptidases. *Biochimie* 166:4–18. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2019.07.026>
- Rawlings ND, Tolle DP, Barrett AJ (2004) Evolutionary families of peptidase inhibitors. *Biochem J* 378(3):705–716. <https://doi.org/10.1042/bj20031825>
- Riley BT, Ilyichova O, De Veer SJ, Swedberg JE, Wilson E, Hoke DE, Harris JM, Buckle AM (2019) KLK4 inhibition by cyclic and acyclic peptides: structural and dynamical insights into standard-mechanism protease inhibitors. *Biochemistry* 58(21):2524–2533. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.9b00191>
- Rosell CM, Aja S, Sadowska J (2002) Amylase activities in insect (*Aelia* and *Eurygaster*)-damaged wheat. *J Sci Food Agric* 82(9):977–982. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1138>
- Ryan CA (1990) Protease inhibitors in plants: genes for improving defenses against insects and pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 28(1):425–449. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.28.090190.002233>
- Saadati F, Bandani AR (2011) Effects of serine protease inhibitors on growth and development and digestive serine proteinases of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps*. *J. Insect Sci* 11(72). <https://doi.org/10.1673/031.011.7201>
- Saadati M, Toorchi M (2017) The study of plant protein accumulation in gut of insect using proteomics technique: Wheat–sunn pest interaction. *J Saudi Soc Agric Sci* 16(3):205–209. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.06.005>
- Sabancı K (2020) Detection of sunn pest-damaged wheat grains using artificial bee colony optimization-based artificial intelligence techniques. *J Sci Food Agric* 100(2):817–824. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10093>
- Safarnejad MR, Jouzani GS, Tabatabaie M, Twyman RM, Schillberg S (2011) Antibody-mediated resistance against plant pathogens. *Biotechnol Adv* 29(6):961–971. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.011>
- Santiago PB, de Araujo CN, Motta FN, Praça YR, Charneau S, Bastos IM, Santana JM (2017) Proteases of haematophagous arthropod vectors are involved in blood-feeding, yolk formation and immunity. *Parasites Vectors* 10(1):79. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2005-z>
- Santos A, Ribeiro JM, Lehane MJ, Gontijo NF, Veloso AB, Sant’Anna MR, Araujo RN, Grisard EC, Pereira MH (2007) The sialotranscriptome of the blood-sucking bug *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera, Triatominae). *Insect Biochem Mol Biol* 37(7):702–712. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.04.004>
- Schneider EL, Lee MS, Baharuddin A, Goetz DH, Farady CJ, Ward M, Wang CI, Craik CS (2012) A reverse binding motif that contributes to specific protease inhibition by antibodies. *J Mol Biol* 415(4):699–715. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.11.036>
- Shamsi TN, Parveen R, Fatima S (2016) Characterization, biomedical and agricultural applications of protease inhibitors: A review. *Int J Biol Macromol* 91:1120–1133. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.02.069>
- Shelomi M, Danchin EGJ, Heckel DG, Wipfler B, Bradler S, Zhou X, Pauchet Y (2016) Horizontal gene transfer of pectinases from bacteria preceded the diversification of stick and leaf insects. *Sci Rep* 6:26388. <http://dx.doi.org/10.1038/srep26388>

- Shewry PR (2019) What is gluten – why is it special? *Front Nutr* 6:101. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00101>
- Shewry PR, Halford NG (2002) Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J Exp Bot. Oxford University Press Online* 53(370). <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.370.947>
- Singh CB, Jayas DS, Paliwal J, White NDG (2009) Detection of insect-damaged wheat kernels using near-infrared hyperspectral imaging. *J Stored Prod Res* 45(3):151–158. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2008.12.002>
- Singh S, Singh A, Kumar S, Mittal P, Singh IK (2018) Protease inhibitors: recent advancement in its usage as a potential biocontrol agent for insect pest management. *Insect Sci* (2):186–201. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12641>
- Sivri D, Batey IL, Skylas DJ, Daqiq L, Wrigley CW (2004) Changes in the composition and size distribution of endosperm proteins from bug-damaged wheats. *Aust. J. Agric. Res* (4):477–483. <https://doi.org/10.1071/AR03185>
- Sivri D, Köksel H (1998) Effects of wheat bug (*Eurygaster maura*) proteolytic enzymes on electrophoretic properties of gluten proteins. *N Z J Crop Hort Sci* 26:117–125. <https://doi.org/10.1080/01140671.1998.9514048>
- Sivri D, Köksel H (2000) Characterisation and partial purification of a gluten hydrolyzing proteinase from bug (*Eurygaster* spp.) damaged wheat. In: Shewry PR, Tatham AS (eds). *Wheat Gluten*. Bristol: Royal Society of Chemistry. 287–290. <https://doi.org/10.1039/9781847552372-00287>
- Sivri D, Sapirstein HD, Bushuk W, Köksel H (2002) Wheat intercultivar differences in susceptibility of glutenin protein to effects of bug (*Eurygaster integriceps*) protease. *Cereal Chem* 79(1):41–44. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.2002.79.1.41>
- Solleti SK, Bakshi S, Purkayastha J, Panda SK, Sahoo L (2008) Transgenic cowpea (*Vigna unguiculata*) seeds expressing a bean α -amylase inhibitor 1 confer resistance to storage pests, bruchid beetles. *Plant Cell Rep* 27:1841–1850. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0606-x>
- Soucy SM, Huang J, Gogarten JP (2015). Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nat Rev Genet* 16(8):472–482. <https://doi.org/10.1038/nrg3962>
- Sparks ME, Bansal R, Benoit JB, Blackburn MB, Chao H, Chen M, Cheng S, Childers C, Dinh H, Doddapaneni HV, Dugan S (2020) Brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål), genome: putative underpinnings of polyphagy, insecticide resistance potential and biology of a top worldwide pest. *BMC genomics* 21(1):1–26. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6510-7>
- Stam MR, Danchin EGJ, Rancurel C, Coutinho PM, Henrissat B (2006) Dividing the large glycoside hydrolase family 13 into subfamilies: towards improved functional annotations of α -amylase-related proteins. *Prot Eng Des Sel* 19: 555–562. <https://doi.org/10.1093/protein/gzl044>
- Stepniak D, Spaenij-Dekking L, Mitea C, Moester M, de Ru A, Baak-Pablo R, van Veelen P, Edens L, Koning F. (2006) Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 291(4):G621–629. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00034.2006>
- Tamaki FK, Pimentel AC, Dias AB, Cardoso C, Ribeiro AF, Ferreira C et al. (2014) Physiology of digestion and the molecular characterization of the major digestive enzymes from *Periplaneta americana*. *J Insect Physiol* 70:22–35. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.08.007>
- Tatham AS, Shewry PR (2008) Allergens to wheat and related cereals. *Clin Exp Allergy* 38(11):1712–1726. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2222.2008.03101.x>
- Tereshchenkova VF, Klyachko EV, Benevolensky SV, Belozersky MA, Dunaevsky YE, Filippova IY, Elpidina EN (2019) Preparation and purification of recombinant dipeptidyl peptidase 4 from *Tenebrio molitor*. *Appl Biochem Microbiol* 55(3):218–23. <https://doi.org/10.1134/S0003683819030141>
- Terra WR, Dias RO, Ferreira C (2019) Recruited lysosomal enzymes as major digestive enzymes in insects. *Biochem Soc Trans* 47(2):615–623. <https://doi.org/10.1042/BST20180344>
- Terra WR, Ferreira C (2012) Biochemistry and molecular biology of digestion. In: Gilbert LI (ed) *Insect Molecular Biology and Biochemistry*. London: Academic Press. 365–418. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384747-8.10011-X>
- Thakur N, Munday JK, Upadhyay SK (2016) RNAi—Implications in entomological research and pest control. *RNA Interference* 6:341–70. <http://dx.doi.org/10.5772/61814>
- Torbica AM, Mastilović JS, Pojić MM, Kevrešan ŽS (2014) Effects of wheat bug (*Eurygaster* spp. and *Aelia* spp.) infestation in preharvest period on wheat technological quality and gluten composition. *Sci World J Article ID* 148025 <http://dx.doi.org/10.1155/2014/148025>
- Türker S, Elgün A (1998a) Süne-kımlı zararlı tavlı buğdaylara mikrodalga uygulamasının öğütme ve un özelliklerine etkisi. *Gıda Derg.* 23 (1):67e73.
- Türker S, Elgün A (1998b) Süne ve kımlı zararlı buğdayların farklı sıcaklıklarda kısa süreli depolanmasının un özelliklerine etkisi. *Un Mamülleri Dünyası* 6(5-6):50
- Vaccino P, Ingegno B, Pansa M, Copta T, and Tavella L (2016) Common wheat and cereal bug interactions: kernel quality depletion and immunodetection of damage. *J Agric Sci* 155(2):193–204. <https://doi.org/10.1017/S0021859616000162>.
- van de Wal Y, Kooy YM, van Veelen P, Vader W, August SA, Drijfhout JW, Peña SA, Koning F (1999) Glutenin is involved in the gluten-driven mucosal T cell response. *Eur J Immunol* 29(10):3133–3139. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199910\)29:10<3133::AID-IMMU3133>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199910)29:10<3133::AID-IMMU3133>3.0.CO;2-G)
- Vatanparast M, Hosseinaveh V, Hosseinaveh F, Pakarpour F (2011) Digestive pectinolytic activity in the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Arch Phytopathol Pflanzenschutz* 44(14): 1390–1398. <https://doi.org/10.1080/03235408.2010.499723>
- Vishram A Clack B (2015) Identification of prolyl endopeptidase (PEP) inhibitory peptides from *Lactobacillus helveticus* digestion of four recombinant bovine caseins. *The FASEB J* 29(1_supplement):894–812
- Vizioli J, Catteruccia F, della Torre A, Reckmann I, Müller, H-M (2001) Blood digestion in the malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Eur J Biochem* 268 (14):4027–4035. <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2001.02315.x>.
- Walker AA, Weirauch C, Fry BG, King GF (2016) Venoms of heteropteran insects: a treasure trove of diverse pharmacological toolkits. *Toxins* 8(2):43 <https://doi.org/10.3390/toxins8020043>
- Wang D, Shi X, Liu D, Yang Y, Shang Z (2020) Transcriptome profiling revealed potentially critical roles for digestion and defense-related genes in insects' use of resistant host plants: a case study with *Sitobion avenae*. *Insects* 11(2):90. <https://doi.org/10.3390/insects11020090>
- Wang L, Yu B, Wang R, Xie J (2018) Biotechnological routes for transglutaminase production: recent achievements, perspectives and limits. *Trends Food Sci Technol* 81:116–120. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.015>
- Wang Y, Zhang H, Li H, Miao X (2011) Second-generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control. *PLoS one* 6(4): e18644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018644>
- Werteker M, Kramreither G (2008) Relation between susceptibility to wheat bug attack and digestibility of glutenin. *J Cereal Sci* 47(2):226–232. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.03.012>
- Xu P, Lu B, Liu J, Chao J, Donkersley P, Holdbrook R, Lu Y (2019) Duplication and expression of horizontally transferred polygalacturonase genes is associated with host range expansion of mirid bugs. *BMC Evol Biol* (2019) 19(1):1–9. <https://doi.org/10.1186/s12862-019-1351-1>
- Yamagata H, Kunimatsu K, Kamasaka H, KURAMoTo T, Iwasaki T (1998) Rice bifunctional α -amylase/subtilisin inhibitor: characterization, localization, and changes in developing and

- germinating seeds. *Biosci Biotechnol Biochem* 62(5):978–985. <https://doi.org/10.1271/bbb.62.978>
- Yandamuri RC, Gautam R, Darkoh C, Dareddy V, El-Bouhssini M, Clack BA (2014) Cloning, expression, sequence analysis and homology modeling of the prolyl endoprotease from *Eurygaster integriceps* Puton. *Insects* 5(4):762–82. <https://doi.org/10.3390/insects5040762>
- Yarullina LG, Akhatova AR, Kasimova RI (2016) Hydrolytic enzymes and their proteinaceous inhibitors in regulation of plant–pathogen interactions. *Russ J Plant Physiol* 63(2):193–203. <https://doi.org/10.1134/S1021443716020151>
- Yetter MA, Saunders RM, and Boles HP (1979) α -Amylase inhibitors from wheat kernels as factors in resistance to postharvest insects. *Cereal Chem* 56(4):243–244
- Yildirim M, Hetiarachchy NS (1997) Biopolymers produced by cross-linking soybean 11S globulin with whey proteins using transglutaminase. *J Food Sci* 62(2):270–275. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb03983.x>
- Yu X, Wang G, Huang S, Ma Y, Xia L (2014) Engineering plants for aphid resistance: current status and future perspectives. *Theor Appl Genet* 127:2065–2083. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2371-2>
- Zeng F Cohen AC (2000) Partial characterization of α -amylase in the salivary glands of *Lygus hesperus* and *L. lineolaris*. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 126(1):9–16. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(00\)00193-8](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(00)00193-8)
- Zeng F, Zhu YC, Cohen AC (2002) Molecular cloning and partial characterization of a trypsin-like protein in salivary glands of *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae). *Insect Biochem Mol Biol* 32(4):455–464. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(01\)00123-0](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(01)00123-0)
- Zhang H, Fangel JU, Willats WG, Selig MJ, Lindedam J, Jørgensen H, Felby C (2014) Assessment of leaf/stem ratio in wheat straw feedstock and impact on enzymatic conversion. *Gcb Bioenergy* 6(1):90–96. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12060>
- Zhu YC, Yao J, Luttrell R (2016) Identification of genes potentially responsible for extra-oral digestion and overcoming plant defense from salivary glands of the tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) using cDNA sequencing. *J Insect Sci* 16(1):60. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iew041>
- Zhu YC, Zeng F, Oppert B (2003) Molecular cloning of trypsin-like cDNAs and comparison of proteinase activities in the salivary glands and gut of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Insect Biochem Mol Biol* 33(9):889–99. [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(03\)00094-8](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(03)00094-8)
- Zibae A, Hoda H, Fazeli-Dinan M (2012) Role of proteases in extra-oral digestion of a predatory bug, *Andrallus spinidens*. *J Insect Sci* 12(51):1–17. <https://doi.org/10.1673/031.012.5101>

Translation of Russian References

- Arkhipov MV, Priyatkin NS, Gusakova LP, Potrakhov NN, Kropotov GI (2017) [Non-destructive quality control of seeds: opportunities and prospects]. *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* 66:20–27 (In Russian)
- Burinskaya NV (1985) *Amiloza i amilopektin v krakmale pshenits, obladayushchikh razlichnoy ustoichivostyu k vrednoy cherepashke* [Amylose and amylopectin in starch of wheat varieties with different resistance to the Sunn pest. In: Resistance of farm crops to pests and problems of plant protection. Leningrad. VIZR: p. 108–111 (In Russian)]
- Burlaka GA, Kaplin VG (2015) *Bioekologicheskoe obosnovaniye zashchity zernovykh zlakov ot hlebnyyh klopov (nadsemeystva Pentatomoidea) v lesostepi Srednego Povolzh'ya* [Bioecological substantiation of the protection of cereals from bread bugs (Pentatomoidea superfamily) in the forest-steppe of the Middle Volga] Samara: RIC SGSKhA. 145 p. <https://rucont.ru/efd/343267> (In Russian)
- Devgen NV, Node Ya, Ramakers R, Bogart T [Reducing gene expression in insect pests] Patent 218.016.7A1F. <http://edrid.ru/rid/218.016.7A1F.html> (In Russian)
- Dolgikh VV, Senderskiy IV, Konarev AV (2014) [Production and properties of recombinant glutenin-cleaving proteinases from *Eurygaster integriceps* Put.] *Applied Biochemistry and Microbiology* 50(5):433–440. <https://doi.org/10.1134/S0003683814040048> (Translated in English)
- Dolgikh VV, Tsarev AA, Senderskiy IV, Timofeev SA, Konarev AV (2017) [Recombinant single chain antibodies as implement for detection and studying *Eurygaster integriceps* proteinases hydrolyzing gluten]. *Vestnik zashchity rasteniy* 91(1):21–26 (In Russian)
- Dubovskiy IM, Grizanova EV, Boyarisheva EA, Ismailov VYa, Glupov VV (2006) [Investigation of proteases in the digestive tract of different generations of sunn pest, *Eurygaster integriceps* Put. (Heteroptera, Scutelleridae)]. *Evrasiyskiy entomologicheskii zhurnal* 5(4): 271–275 (In Russian)
- Emelyanov N.A. (2008) [Immunity and possibilities of the selection stability varieties to the ferments of the *Eurygaster integriceps* Put.] *Vestnik Saratovskogo gosagrouniversiteta im. N.I. Vavilova* 5:16–19 (In Russian)
- Gagkaeva TYu, Gavrilova OP, Levitin MM, Novozhilov KV (2011) [The fusariosis of cereal crops] *Zashchita i karantin rasteniy* 5:69–120 (In Russian)
- Gavrilyuk I.P., Konarev V.G., Shapiro I.D., VilkoVA NA Semenova AYa, Litvinov A.M (1978) Patent SU 487627 (In Russian)
- Kapustkina AV, Nefedova L (2017) [Viability of seeds at damage of wheat by Sunn pest]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2(92):22–28 (In Russian)
- Konarev A.I.V., Dolgikh V.V., Senderskiy I.V., Nefedova L.I., Konarev A.V., Gubareva N.K. (2014) [Properties of natural and recombinant Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) salivary gland proteinases hydrolyzing wheat gluten]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2:3–16 (In Russian)
- Konarev AIV (1981) [Specificity of albumins of wheat grain – the inhibitors of α -amylase – in relation to the ferments of the Sunn pest] *Bulletin VIR* 114:30–32 (In Russian)
- Konarev AIV (1982a) [Identification of inhibitors of endogenous and exogenous α -amylases among wheat proteins] *Bulletin VIR* 118:11–12 (In Russian)
- Konarev AIV (1982b) [Component composition and genetic control of insect α -amylase inhibitors from wheat and aegilops grain]. *Doklady VASKHNIL* 6:42–44 (In Russian)
- Konarev AIV (1982v) *Priroda ingibitorov α -amilaz v svyazi s problemami evolyutsii i immuniteta pshenitsy i drugikh zlakov* [The nature of α -amylase inhibitors in connection with the problems of evolution and immunity of wheat and other cereals] Cand. Biol. Thesis. Leningrad. 170 p. (In Russian)
- Konarev AIV (1982a) [Identification of inhibitors of endogenous and exogenous α -amylases among wheat proteins]. *Bulletin VIR* 118:11–12 (In Russian)
- Konarev AIV (1985) [Methods for analyzing the component composition of α -amylase and proteinase inhibitors in cereals] *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* 21(1):92–100 (In Russian)
- Konarev AIV (1992) *Sistemy ingibitorov gidrolaz u zlakov: organizatsiya, funktsii i evolyutsionnaya izmenchivost* [Cereal hydrolase inhibitor systems: organization, function, and evolutionary variability] *Dr. Biol. Thesis*. Moscow. 356 p. (In Russian)
- Konarev AIV (2017) [Molecular aspects of plant immunity and their coevolution with insects] *Biosfera* 9(1):79–99. <https://doi.org/10.24855/biosfera.v9i1.325> (In Russian)
- Konarev AIV, Konarev AV, Nefedova LI, Gubareva NK, Ozay DS (2013) Analysis of gluten-hydrolyzing proteinase polymorphism in wheat grains damaged by Sunn Pest *Eurygaster integriceps* Put. and related bugs. *Russian Agricultural Sciences* 39(5–6):390–395. <https://doi.org/10.3103/S1068367413060104> (Translated in English)

- Konarev AIV, Mit'fanova OP (1987) [Analysis of inheritance of α -amylase and trypsin inhibitor components in soft wheat] *Tsitologiya i genetika* 21(1): 15–18 (In Russian)
- Konarev AIV, Dolgikh VV, Senderskiy IV, Kapustkina AV, Nefedova LI, Konarev AV, Gubareva NK (2017) [Immunochemical analysis of Sunn pest *Eurygaster integriceps* proteinase complex hydrolyzing wheat gluten proteins] *Vestnik zashchity rasteniy* 1:12–20 (In Russian)
- Konarev AIV, Fomicheva YuV (1991) [Cross analysis of the interaction of α -amylase and proteinase components of insects with protein inhibitors from wheat endosperm]. *Biokhimiya* 56(4):628–638 (In Russian)
- Konarev VG (1983) *Belki rasteniy kak geneticheskie marker* [Plant proteins as genetic markers]. Moscow: Kolos. 320 p. (In Russian)
- Kovalchuk E (2009) [A simple way to adjust flour quality in mills]. *Khleboprodukt* 10:40–41 (In Russian)
- Kuznetsova SS, Kolesanova EF, Talanova AV, Veselovsky AV (2016) [Prospects for the design of new therapeutically significant protease inhibitors based on knottins and sunflower seed trypsin inhibitor (SFTI 1)]. *Biomeditsinskaya khimiya* 62(4):353–368. <http://doi.org/10.18097/PBMC20166204353> (In Russian)
- Mosolov VV (1983) *Belkovye ingibitory kak regulatory protsessov proteoliza* [Plant proteinaceous inhibitors as regulators of proteolysis]. Moscow: Nauka. 41 p. (In Russian)
- Neimorovets VV, Konarev AIV, Nefedova LI, Grichanov IYa (2016) [Methods for the detection of the damage of the ear and grains of cereals caused by corn bugs of the *Eurygaster* genus (review)]. *Zashchita i karantin rasteniy* 2: 28–36 (In Russian)
- Pavlyushin VA, Vil'kova NA, Sukhoruchenko GI, Nefedova LI, Kapustkina AV (2015) *Vrednaya cherepashka i drugie khlebnye klop* [Sunn pest and other wheat bugs]. St. Petersburg: VIZR. 280 p. (In Russian)
- Rylko D. (2011) [Damage from Sunn pest] *Agroinvestor* January, 19. <https://www.agroinvestor.ru/markets/article/11707-vred-ot-cherepashki/> (In Russian)
- Semenova AY, Vil'kova NA, Gavrilyuk IP (1977) [On the specificity of salivary gland proteins of some bread bugs]. *Trudy VIZR* 36–38 (In Russian)
- Tenyaeva OL (2004) *Gliadinovyy kompleks zerna ozimoy pshenitsy, ustoichivoy k vrednoy cherepashke Eurygaster integriceps Put.* [Grain gliadin complex of winter wheat resistant to Sunn pest] *Dr. Biol. Thesis*. Saratov. 175 p. (In Russian)
- Vilkova NA (1968) On the physiology of nutrition of Sunn bug *Eurygaster integriceps* (Heteroptera, Scutelleridae). *Entomologicheskoe obozreniye* 47(2):701–710 (In Russian)
- Vilkova NA (1973) [The feeding of the Sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. on different wheat varieties] *Trudy VIZR* 37:59–75 (In Russian)
- Vilkova NA (1979) [Immunitet rasteniy k vreditelyam i ego svyaz s pishchevoy specializatsiey nasekomyh-fitofagov] *Chteniya pamyati N.A.Kholodkovskogo* 31:68–103. (In Russian)
- Vilkova NA (1980) *Fiziologicheskoe osnovy teorii ustoychivosti rasteniy k nasekomym* [Physiological basis of the theory of plant resistance to insects] *Abstr. Dr. Agr.Sci. Thesis*. Leningrad. 49 p. (In Russian)
- Vilkova NA, Konarev AV (2010) [Modern problems of plant immunity to pests]. *Vestnik zashchity rasteniy*. 3:3–15 (In Russian)
- Vilkova NA, Shapiri ID, Borshcheva TA (1976) *Ispolzovaniye infrakrasnoy mikroskopii dlja diagnostiki povrezhdeniya i ustoychivosti zernovok k klopam. Metody issledovaniya patologicheskikh izmeneniy v rastenii* [The use of infrared microscopy to diagnose damage and resistance of kernels to bugs. Methods for the study of pathological changes in plants]. Moscow: Kolos. 216–219. (In Russian)
- Vilkova NA, Kapustkina AV, Konarev AIV, Frolov AN (2018) [Problems of diagnostics of wheat grain damage by wheat bugs] *Zashchita i karantin rasteniy* 9:3–8 (In Russian)
- Vilkova NA, Nefedova LI, Khudyakov SV (2006) [Method for diagnosing of wheat grain injured by sucking pests]. Patent RU 2278502 (In Russian)
- Yakovenko VA, Litvinov AM, Gavrilyuk IP (1978) Electrophoretic characterisation of proteins of chinch-bug affected wheat. *Izvestia Vysshikh Uchebnykh Zavedeniy. Pishchevaya Tekhnologiya*. 3:17–19 (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(2), p.65–86

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13279>

Full-text review

DIGESTIVE HYDROLASES OF WHEAT BUGS: PROPERTIES, SIGNIFICANCE AND POSSIBLE WAYS TO LIMIT THEIR ACTIVITY

A.V. Konarev

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

e-mail: al_konarev@hotmail.com

Digestive hydrolases are the key elements of trophic links in ecosystems. The systems of digestive hydrolases of phytophagous insects have been established during their long-term co-evolution with plants. This is also true for herbivorous bugs, including a dangerous pest of wheat, the Sunn bug (also known as the Sunn pest). Proteases are the main economically significant damage factor of representatives of the genus *Eurygaster* and other bugs harmful to the wheat grain. Proteases disrupt the structure of gluten and seriously impair the baking qualities of flour. α -Amylases provide assimilation of starch, the main source of energy for these insects. The data on digestive α -amylases and proteases of the Sunn pest remain fragmentary. Little is known regarding the enzymes involved in bugs' feeding by the vegetative parts of cereals. There are many ways to strengthen gluten damaged by bugs, though not all of them are safe. Proteinaceous inhibitors of proteases and other hydrolases are considered as promising elements to develop safe for health and eco-friendly means to control wheat bugs and reduce their damage to the grain quality. The reduced sensitivity of the Sunn pest proteases to protein inhibitors can be overcome by constructing novel inhibitors based on their known forms, as well as by involving other highly specific approaches, including the use of antibodies to active enzyme centers or RNA interference. The bugs' proteases themselves can be used in the diagnosis of grain damage, in food technologies and in medicine.

Keywords: Sunn pest, wheat bugs, digestive hydrolases, α -amylases, proteases, wheat gluten, inhibitors

Received: 28.04.2020

Accepted: 28.05.2020

БАКТЕРИАЛЬНЫЙ РАК ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ И ДЕКОРАТИВНЫХ КУЛЬТУР, ВЫЗЫВАЕМЫЙ *AGROBACTERIUM* SPP.

А.М. Лазарев^{1*}, А.Н. Игнатов^{2,3}, М.В. Воронина²

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

²ООО Исследовательский Центр «ФитоИнженерия», Московская обл.

³Российский университет дружбы народов, Москва

* ответственный за переписку, e-mail: allazar54@mail.ru

Известно более 100 семейств растений (84 – двудольных), плодовых, ягодных и декоративных культурах, поражаемых бактериальным раком (англ.: “crown gall” – корончатый галл), вызываемым *Agrobacterium tumefaciens* и бактериями близких видов и даже родов альфа-протобактерий, например, *Allorhizobium vitis*. Приведены сведения по таксономическому положению патогена, симптоматике больных растений и почвенно-климатические условия, наиболее благоприятные для развития заболевания. Даны морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и некоторые генетические признаки его возбудителя. Очерчены ареал и зона вредоносности корневого рака плодовых культур на территории Российской Федерации и ряда соседних стран. Приведены методики оценки вредоносности бактериоза и некоторые результаты проверки устойчивости растений к его возбудителю, а также освещены меры борьбы с указанным заболеванием.

Ключевые слова: бактериальный рак, таксономия, патогенез, распространенность, вредоносность, меры борьбы

Поступила в редакцию: 01.05.2019

Принята к печати: 02.05.2020

Корневой рак (“crown gall” – корончатый галл) – заболевание растений с симптомами пролиферации тканей стебля или корня растения, вызываемое при переносе в клетки растения *Ti*-плазмиды из вирулентной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* (син. *Rhizobium radiobacter*). Внешне болезнь проявляется в виде галлов, наростов, опухолей на надземных или подземных органах растений. В данном обзоре не рассматривается заболевание, вредоносное в России в защищенном грунте при гидропонном (малообъемном) выращивании растений, вызываемое группой штаммов *A. tumefaciens*, несущие другой тип плазмид – *Ri*, которые вызывают разрастание корней (бородатость корней, «бешенство корней» (Eng.: “crazy roots”) или корневой мат (Eng.: “root mat”).

Невирулентные (лишенные *Ti/Ri*-плазмиды) штаммы агробактерии присутствуют повсеместно в почве, воде, в окружении растений, составляя значительную часть типичной микробиоты (Escobar, Dandekar, 2003).

Корневой рак поражает практически все покрытосеменные двудольные древесные и кустарниковые плодовые, ягодные, декоративные культуры, а также однолетние технические (подсолнечник, рапс и др.) и овощные (морковь, свёклу, томат, капусту белокочанную и т.д.) растения, принадлежащие многим семействам этого класса растений.

Среди покрытосеменных растений 58% проанализированных видов двудольных оказались неустойчивы (всего 596 видов), они принадлежали к 76% изученных семейств растений (всего 84 семейства). Напротив, среди однодольных всего 8% изученных авторами видов, представляющих 10% изученных родов, оказались восприимчивыми (De Cleene, De Ley, 1976). Все они принадлежали порядкам Liliales и Arales.

Патоген редко поражает грибы и низшие растения, хотя образование опухолей после искусственной инокуляции описано для слизевика *Physarum polycephalum*

Schwein, (Мухоморы, Мухоморы, шампиньоны *Agaricus campestris* L. (Fungi, Basidiomycetes), красных водорослей сем. Florideae (Rhodophyta), папоротника орляка обыкновенного *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Pteridophyta, Filices) и мха *Pylaisiella selwynii* Kindb., (Hypnaceae, Bryophytes).

Среди голосеменных известно по меньшей мере 38 восприимчивых к патогену видов различных семейств в классе Coniferopsida. Определено, что в семействах Cupressaceae и Taxaceae восприимчивые виды содержат меньше хинной и шикимовой кислот (De Cleene, De Ley, 1976).

Корневой рак вредоносен в большинстве стран Европы, Азии, Африки, Америки и в других регионах (Lopez, 1978; Sawada et al., 1990, 1993; Bouzar et al., 1991; Lastra et al., 2000; Argun et al., 2002; Soriful et al., 2010; Vizitiu (Bălăşoiu), Dejeu, 2011; Abdellatif et al., 2013). Он наносит значительные выпадения растений в садах, питомниках и теплицах, и потери урожая плодовых и ягодных культур на территории Российской Федерации в местах интенсивного выращивания восприимчивых культур в открытом грунте и повсеместно – в защищенном грунте (Бурдинская, Арестова, 2010; Макаркина и др., 2017; Лазарев и др., 2017; Бунцевич и др., 2018; Воронина, 2018). Наибольший экономический ущерб отмечают в открытом грунте – плодовым и ягодным питомникам, винаградникам, декоративным растениям и овощным культурам в теплицах (Гвоздяк и др., 2011; Воронина, 2018).

Из зоны первичного широкого распространения (юг Европейской части РФ) границы ареала постепенно продвигаются на север и восток, что связывают с изменением климата (Бунцевич и др., 2017). Вредоносность бактериоза в России и странах Восточной Европы значительно увеличилась с начала 1990-х годов, что было вызвано созданием большого числа небольших коммерческих питомников плодовых и декоративных растений, которые не обеспечивают надлежащий фитосанитарный контроль при

размножении растений. В последние годы новым значительным источником инфекции стали предприятия защищенного грунта, в которых закрепились как возбудитель корневого рака (в основном, на декоративных культурах), так и возбудитель бородастости корней (Воронина, 2018).

На основании сбора и анализа материалов по распространенности и вредоносности бактериоза на территории Российской Федерации и ряда соседних стран нами оформлена специальная векторная карта (Афонин и др., 2008) встречаемости и вредоносности заболевания, которая была наложена на карту распространения поражаемых культур (Точенов и др., 1984). Она состоит из двух тематических слоев, характеризующих зону распространения и зону высокой вредоносности болезни на культурных растениях. Зона вредоносности определена для тех регионов, где могут поражаться более 10% растений, и включает южные области России и соседние с Российской Федерацией страны – Украину, Молдову, Азербайджан (Нагапетян, Казарян, 1980; Мялова, 1990; Магер, 1991; Афонин и др., 2008; Лазарев и др., 2017).

Возбудитель данного заболевания – бактерия *Agrobacterium tumefaciens* (син. *Rhizobium radiobacter*) Beijerinck, van Delden 1902 (Young et al. 2001), принадлежит к порядку Rhizobiales; семейство Rhizobiaceae; род *Rhizobium*, вид свободноживущих почвенных альфа-протеобактерий, который исторически описан как две линии синонимов:

1) почвенный вид бактерий *R. radiobacter* впервые был описан М.В. Бейеринком (M.W. Beijerinck) и А. ван Делденом (A. van Delden) в 1902 г. под названием «*Bacillus radiobacter*». F. Löhnis в 1905 г. перенес его в род *Bacterium*, E. Pribram в 1933 г. – в *Rhizobium*, D.H. Bergey в 1934 г. – в *Achromobacter*, H.J. Conn в 1939 г. – в *Alcaligenes*, и он же в 1942 г. – в род *Rhizobium* (Kado, 2014);

2) фитопатогенная бактерия этого вида была выделена из опухоли на маргаритке (Smith, Townsend, 1907) под названием «*Bacterium tumefaciens*» (в названии была отражена способность бактерии вызывать опухоли на растениях). Затем вид переносили в другие роды (*Pseudomonas*, *Phytomonas*, *Polymonas*), и, наконец, в 1942 г. классифицировали его как *A. tumefaciens* (Smith, Townsend 1907) Conn 1942 (Conn, 1942).

В 1993 г. группа японских микробиологов предложила отменить название *A. tumefaciens* как нелегитимный синоним названия *A. radiobacter* (Beijerinck, van Delden) Conn (Sawada et al., 1993). В 2006 г. уже целый ряд систематиков предложили перевести виды *Agrobacterium* (в т.ч. *A. tumefaciens*) в род *Rhizobium*, в результате чего обе линейки синонимов вида слились бы в *Rhizobium radiobacter* (Beijerinck, van Delden) (Young et al., 2006). Далее, было предложено один из видов – *Agrobacterium vitis*, перенести во вновь созданный род *Allorhizobium* (Mousavi et al., 2014).

Тем не менее, до сих пор специалисты активно используют оба названия в научной литературе: *Agrobacterium* – в фитопатологической, *Rhizobium* – в микробиологической. В настоящее время в пределах рода *Agrobacterium* выделяют 10 видов бактерий, специализирующихся, преимущественно, на растениях-хозяевах отдельных видов и родов, а микробиологический вид «*A. tumefaciens* complex», в свою очередь, включает 10 геномовидов, определяемых,

в основном, по генетическому или геномному разнообразию (Kado, 2014).

Клетки возбудителя болезни – палочки, подвижные благодаря 1–3 перитрихальным жгутикам, грамотрицательные, неспороносные. Облигатные аэробы. Рост патогена на средах с углеводами сопровождается обильное образование внеклеточной полисахаридной слизи. Патоген развивается при 0–37°C, оптимальная температура роста 25–30°C, термальная точка гибели в растениях 51°C. Оптимальный диапазон развития в чистой культуре – pH 6.0–9.0 (Conn, 1942).

Хотя патоген, вызывавший бактериальный рак винограда, был выделен еще в 1897 году и описан в 1907 (см. выше), долгое время неизвестными оставались механизмы патогенеза этой болезни. Еще в 1974 году было сделано предположение, что патоген использует перенос плазмиды для инфицирования растения-хозяина (Roberts, Kerr, 1974), но понадобились годы работы, чтобы установить факт и механизм переноса *Ti/Ri* – плазмиды из клетки патогена в клетку растения-хозяина, и также роль отдельных генов в образовании опухоли и патогенеза в целом (Kado, 2014). Патогенные штаммы рода *Agrobacterium* несут в себе, по меньшей мере, одну большую (более 200 тыс. п.о.) *Ti/Ri*-плазмиду. Вирулентность штамма определяют различные участки плазмиды, включая транспортируемую в растительную клетку ДНК (Т-ДНК), и гены вирулентности (*vir*-гены). Белки, кодируемые генами вирулентности, служат посредниками в передаче Т-ДНК в пораженные растительные клетки (Chilton et al., 1980).

Начиная с 1980-х гг., *Ti/Ri* – плазмиды стали основой генной инженерии растений путем переноса генов (Kado, 2014). Несмотря на всю важность возбудителя для биологической науки и сельского хозяйства, есть очень ограниченное число исследований генетического разнообразия *Agrobacterium* spp. (Bosmans et al., 2015). Вероятно, сложность классификации этих бактерий вызвана частым переходом плазмид, определяющих вирулентность, между родственными альфа-протеобактериями. Штаммы *Ochrobactrum*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* с *Ri*-плазмидой, перенесенной из *Agrobacterium* spp., показали частоту заражения тест-растений от 44 до 75%, сравнимую с таковой, или даже выше, чем у исходного штамма фитопатогена (64%) (Weller et al., 2004).

Для оценки патогенности штаммов возбудителя бактериоза наилучшими растениями-индикаторами считают каланхое и томат (побеги и листья), корнеплоды моркови и свеклы, 2–3-месячные сеянцы миндаля и абрикоса, 5-дневные проростки тыквенных культур (Магер, 1991; Воронина, 2018). Возбудитель бактериального рака проникает в растение через механические повреждения корней и стебля (повреждения ветром, вредителями, прививкой и окулировкой, орудиями труда при защите растений и обработке почвы и др.).

Известно, что агробактериальная Т-ДНК содержит гены синтеза опинов – сложных веществ, состоящих из аминокислот и сахаров или органических кислот, специфически используемых агробактерией в качестве источника углерода и азота. Известно около 40 различных типов опинов, при этом некоторые из них способны стимулировать перенос *Ti*-плазмиды от бактерии к бактерии, расширяя спектр генетического разнообразия популяции

патогена (Flores-Mireles et al., 2012). Согласно «опиновой гипотезе», синтез опинов инфицированным растением увеличивает выживание бактерий, способных их метаболизировать (Lang et al. 2014). Оценку растений на устойчивость к *Agrobacterium* spp. обычно проводят по отношению к представителям разных опиновых групп (например, сукцинампиновой (*L,L*-succinamopine), нопалиновой (*norpaline*), октопиновой (*octorpine*) и кукумопиновой (*sucumopine*). Правильное хранение штаммов (криоконсервация при -70 – -80 °C или лиофилизация) должно гарантировать чистоту и вирулентность используемых бактерий. Бактериальную культуру патогена для инокуляции выращивают в жидкой среде LB при 28 °C. Растения повреждают множественными надрезами длиной 3 мм с промежутками по 1 см вокруг стебля, при этом инокулюм вносят в надрез немедленно. Оценку реакции растений на заражение проводят через 3–5 недель после инокуляции. В зависимости от условий (температуры, сезона, устойчивости и возраста растений), период появления симптомов может длиться более 5 недель. Подсчитывают частоту возникновения опухолей относительно числа мест инокуляции и измеряют размер опухолей (Bailey et al., 1994). Степень развития симптомов зависит от вида растения, концентрации инокулюма, температуры и размера повреждения ствола дерева. Например, для винограда оптимальная температура после заражения составляет 28 °C, а оптимальная концентрация суспензии патогена – 10^9 КОЕ/мл, размер поранений ствола – 3.1 мм² (Yun et al., 2003).

При изучении влияния степени поражения саженцев патогеном Магером М.К. (1991) предложена трехбалльная шкала: I балл – саженцы с единичными мелкими опухолями диаметром меньше 1 см; II балла – саженцы с опухолями площадью до 5 см²; III балла – саженцы с опухолями от 5 до 10 см² и более. Пораженные растения группируют по признакам проявления болезни (поражение корневой шейки и главного корня или поражение только боковых корней). Для выявления очагов болезни и определения процента пораженных растений на территории питомника обследуют по 200 растений каждого типа на 10–20 учетных площадках, расположенных по диагонали участка (Бунцевич и др., 2012).

Оценка сортовых различий в восприимчивости растений проведена для немногих культур. В частности, первые результаты по винограду были опубликованы еще в 1910–е годы. Классические сорта *Vitis vinifera* L. (Шардене, Рислинг, Мерло, Каберне Совиньон и др.) оказались восприимчивыми к патогену, в то время как сорта и клоны вида *Vitis riparia* Mitchx (*Riparia Gloire*) – высокоустойчивыми. Клоны вида *Vitis labrusca* и гибридные сорта, в основном, менее восприимчивы, чем растения *V. vinifera* L., за исключением клонов Chancellor и Niagara. Среди подвойных клонов Courderc 3309, 101-14 Mgt и *Riparia Gloire* были устойчивыми, а Teleki 5C и 110 Richter – восприимчивыми. Определенную проблему создает разнообразие штаммов *Agrobacterium* spp., используемых для оценки реакции сортов плодовых и ягодных культур. Наличие в природе нескольких различных штаммов бактерий при инфицировании существенно затрудняет оценку реакции растений (Burr, Otten 1999).

В отличие от большинства фитопатогенных бактерий, данный патоген не убивает растительные клетки, а

стимулирует их нерегулярное деление за счёт генетической трансформации указанной плазмидой, что ведет к клеточной пролиферации (гиперплазии), которая заканчивается формированием корончатых галлов (для штаммов с *Ti*-плазмидой), или многочисленных корней (для штаммов с *Ri*-плазмидой). Считается, что патоген можно обнаружить только в молодых наростах. На начальной стадии патогенеза наросты, мелкие, мягкой консистенции, быстро растущие, белого цвета, позднее темнеющие, приобретающие бугристость и твердость. Напротив, штаммы с *Ri*-плазмидой могут проникать в сосудистую систему растения, распространяться до генеративных органов и вызывать заражение семян (Воронина, 2018). Проникновение патогена в генеративные органы растения сделало возможным наследование фрагментов *Ti/Ri*-плазмид целым рядом покрытосеменных растений, в том числе видами рода *Nicotiana* (White et al., 1983).

Ускоренное развитие инфицированной растительной ткани наблюдается при высокой температуре воздуха (30–35 °C) и при относительной влажности воздуха не менее 95%. Особенно патоген вредоносен для культур в защищенном грунте. На активизацию или затухание инфекционного процесса влияет кислотность почвы: нейтральная или слабощелочная среда его развитию способствует, а кислая – наоборот, ослабляет. Наросты вызывают частичную закупорку проводящих сосудов, в результате чего в стебле/стволе серьезно нарушается передвижение воды и сока, поэтому больные растения значительно замедляют свое развитие. У таких растений преждевременно желтеют листья, растения истощаются, постепенно усыхают и, в конечном итоге, погибают. Пораженные корончатым галлом деревья и кустарники сильнее повреждаются вредителями, ветром и заморозками, что приводит к поражению вторичными грибными и бактериальными патогенами и впоследствии – к гибели растений (Магер, 1991).

Микробиота молодых корончатых галлов представлена, в основном, бактериями видов *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp. и *Agrobacterium* spp. (Faist et al., 2016), хотя на более поздних стадиях количество выделяемых видов возрастает (Воронина, 2018).

Группа *Staphylococcus sciuri* Kloos et al. и *Staphylococcus* spp. составляла 32% от общего числа изолятов, выделенных из галлов розы. Группа *Pseudomonas* spp. (24%) включала несколько известных патогенов растений, например, *Pseudomonas syringae* Van Hall и ризосферных видов, например, *Pseudomonas putida* Trevisan. 16% выделенных изолятов принадлежали виду *Erwinia toletana* Rojas et al. Известно, что этот вид ассоциирован с наростами (галлами) на оливковых деревьях (*Olea europaea* L.), вызываемыми бактерией *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Janse) Gardan, et al. Как показали исследования, совместное заражение растений непатогенной бактерией *E. toletana* и патогеном *P. savastanoi* приводило к повышению вредности болезни. Предполагается, что *E. toletana* выделяет N-ацил-гомосериновые лактоны (N-acyl homoserine lactone), являющиеся универсальными сигналами механизма «quorum-sensing», что способствует формированию стабильного межвидового сообщества бактерий в растительной ткани (Hosni et al., 2011). Агробактерии также могут быть акцепторами сигналов, синтезируемых *E. toletana*. В результате изучения микробиологического

состава корончатых галлов розы были выделены бактерии, выступающие в качестве типичных фитопатогенов (*Erwinia rhapontici* Winslow et al., *Pantoea ananatis* Gavini et al.), эндофитов (*Pantoea agglomerans* Gavini et al., *S. sciuri*, *Enterobacter* spp.) или ризосферных бактерий (*P. putida*, *Pseudomonas* spp.) (Воронина, 2018).

Наши данные показывают, что микробиота ризосферы растений, пораженных *Agrobacterium* sp., преимущественно принадлежит порядкам Flavobacteriales, Rhizobiales, Pseudomonadales, Sphingobacteriales, Burkholderiales, Alteromonadales, Xanthomonadales и Enterobacteriales. Доля бактерий таксона Rhizobiales, родственных *Agrobacterium* sp., существенно выше в ризосфере растений, выращиваемых в гидропонной культуре защищенного грунта на минеральной вате (включая декоративные культуры и саженцы) (25–26% всех бактерий), чем на органическом субстрате (6.6–8.1%). При заражении растений корончатый галлом и бородастостью корней микроорганизмы *Agrobacterium* spp. становились преобладающей частью представителей таксона Rhizobiales (32–72.7%). При поражении растений увеличивалась доля бактерий таксона Flavobacteriales (почти в 2 раза), и выявлялось существенное (1–2%) количество пектолитических Enterobacteriales (в контроле не обнаружены). Полученные результаты свидетельствуют о том, что ризосферное бактериальное сообщество может играть важную роль в развитии болезни растений, вызванной *Agrobacterium* spp. (Воронина, 2018; Ignatov et al., 2017).

Меры борьбы с данным заболеванием включают, в основном, широкий спектр агротехнических приемов, так как разрешенные химические и биологические препараты для его подавления в РФ отсутствуют (Список пестицидов и агрохимикатов..., 2020). Среди средств, прошедших испытания, можно назвать паурин – биопрепарат на основе *P. fluorescens* CR 330D, который применяется для профилактики заболевания в опытных питомниках в Молдове (Леманова, Магер, 2011). Имеются положительные отзывы по применению для профилактики заболевания в РФ и за рубежом целого ряда неvirulentных штаммов *A. radiobacter* (Магер, 1991; Hao et al. 2018). Большая часть испытанных в полевых и лабораторных условиях антагонистов агробактерий принадлежали *Paenibacillus* spp. (Bosmans et al., 2017; Воронина, 2018), *Bacillus subtilis* (Ehrenberg), *Bacillus cereus* (Frankland, Frankland), *Pantoea agglomerans* (Ewing, Fife), *Rahnella aquatilis* Gavini et al., *Acinetobacter calcoaceticus* Beijerinck, *Acinetobacter venetianus* Di Cello et al. и *Enterobacter Ludwigi* Hoffman et al. (Habbadi et al., 2017).

Агробактериальный рак был одной из первых болезней растений, для которой был успешно испытан метод подавления экспрессии генов вирулентности при помощи малых (интерферирующих) РНК (Escobar et al., 2001). К сожалению, разнообразие штаммов патогена и растений-хозяев вносит неопределенность в результаты применения такого метода защиты растений (Albuquerque et al., 2017).

Комплекс агротехнических мероприятий включает, прежде всего, проверку почвы методом ПЦР на зараженность вирулентными штаммами *A. tumefaciens* при закладке плодовых питомников, применение устойчивых

сортов сельскохозяйственных культур, заготовку черенков для прививки от здоровых деревьев и кустов, обязательную дезинфекцию рабочего инструмента после каждого растения при обрезке и прививке, обработку черенков и молодых растений разрешенными для плодовых, ягодных культур и винограда средствами защиты растений для повышения иммунитета и снижения эпифитной популяции патогена, химическую борьбу с насекомыми и нематодами – переносчиками патогена (Гвоздяк и др., 2011; Бунцевич и др., 2018; Воронина, 2018).

Известно, что штаммы группы *A. tumefaciens* характеризуются относительной устойчивостью к ряду известных антибиотиков, кроме наиболее высокотоксичных и малоспецифичных. Практические испытания антагонистов рода *Bacillus*, по сравнению с Фитоплазмином–ВРК и препаратом серебра Зерокс®, показывают высокую эффективность биологического метода защиты против этого патогена. Так, в течение 3 месяцев было достигнуто снижение количества галлов на растениях розы на 20% от первоначального, в то время как в контрольном варианте (обработка водой) оно выросло на 30% (Ходыкина и др., 2014; Makarov et al., 2017; Воронина, 2018).

В Европейском Союзе традиционно применяют методы диагностики и идентификации патогена, основанные на выделении бактерий и идентификации её серологических и биохимических признаков (Manulis et al., 2002). Большинство бактерий, присутствующих на корнях растений, в воде или почве, принадлежат непатогенному виду *A. radiobacter*, поэтому микробиологические методы часто не могут выявить присутствие патогенных форм из-за их низкой доли на фоне огромной популяции родственных бактерий. Как уже было указано, сложность классификации фитопатогенных бактерий *Agrobacterium* spp. во многом вызвана переходом плазмид, определяющих вирулентность, между родственными альфа-протеобактериями (Weller et al., 2004), при этом стимулирование переноса плазмид опинами играет важную роль в адаптации популяции патогена (Flores–Mireles et al., 2012). Так как профилактика корневого рака винограда, плодовых и декоративных культур усугубляется наличием у его возбудителя длительной латентной (скрытой) формы, проведение ПЦР-анализа является обязательным приемом выявления скрытой бактериальной инфекции в посадочном материале (Бурдинская, Арестова, 2010; Макаркина и др., 2017; Воронина, 2018).

Постоянно предлагаются новые методы диагностики патогена, основанные на ПЦР, рекомбиназно-полимеразной амплификации (Recombinase Polymerase Amplification) и других современных технологиях (Fuller et al., 2017). Однако, как отмечено выше, из-за разнообразия природной популяции патогена (Weller et al., 2004; Bosmans et al., 2015) диагностируют молекулярным методом вполне определенные формы патогена. В последние годы, в изучении природных популяций фитопатогенных бактерий наметился прорыв, связанный с широким применением метагеномного секвенирования (Brenig et al. 2010). Этот метод способен выявить все формы факторов вирулентности бактерии, и дать объективную классификацию патогена, присутствующего в конкретном образце.

Библиографический список (References)

- Афонин АН, Грин СЛ, Дзюбенко НИ, Фролов АН, ред (2008) Агрэкологический атлас России и сопредельных государств: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. URL: <http://www.agroatlas.ru> (04.02.2019)
- Бунцевич ЛЛ, Винтер МА, Щербаков НА (2018) Оздоровление питомников сливы и других косточковых культур от бактериального рака, совместные методические подходы. *Плодоводство и виноградарство Юга России* 50(2). <http://journalkubansad.ru/aut/711/>
- Бурдинская ВФ, Арестова НО (2010) Латентная зараженность винограда бактериальным раком. *Защита и карантин растений* 10:38–39
- Воронина МВ (2018) Фитопатогенные бактерии рода *Agrobacterium*: генетическое разнообразие, диагностика, меры защиты: Автореф. дисс. ... к.б.н. М. 21 с.
- Гвоздяк РІ, Пасічник ЛА, Яковлева ЛМ, Мороз СМ и др. (2011) Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин. Київ. 444 с. <http://journalkubansad.ru/pdf/18/02/06.pdf>
- Лазарев АМ, Мыслик ЕН, Варицев ЮА, Зайцев ИА и др. (2017) Ареалы и зоны вредоносности основных бактериозов растений на территории Российской Федерации и сопредельных стран. Приложение к журналу «Вестник защиты растений» 24. СПб.: ВИЗР. 136 с.
- Леманова НВ, Магер МК (2011) Биологический контроль бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens*. *Защита и карантин растений* 6:25–27
- Магер МК (1991) Бактериальный корневой рак (*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Towns.) плодовых культур и меры борьбы с ним: Автореф. дисс. ... к.б.н. Прилуки Минской обл. 22 с.
- Макаркина МВ, Ильницкая ЕТ, Степанов ИВ (2017) Идентификация агробактерий методом ПЦР в растениях винограда с признаками поражения бактериальным раком в ампелоценозах Краснодарского края. *Российская сельскохозяйственная наука* 4:39–42
- Мялова ЛА (1990) Корневой рак плодовых культур в условиях юга Украины и меры борьбы с ними. Материалы конференции. Фитонциды. Бактериальные болезни растений. Киев–Львов 2:129–130
- Нагапетян ЖА, Казарян ЛВ (1980) Поражаемость виноградников Араратской равнины бактериальным раком. Состояние и перспективы развития научных исследований по предотвращению резистентности у вредителей и возбудителей болезней к пестицидам и разработка эффективных мер борьбы с бактериальными болезнями растений (тезисы докладов). М.:122–123
- Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации (2020). Справочное издание. 832 с.
- Точенов ВВ, Марков ВФ, Беляева ЛИ и др, ред (1984) Атлас СССР. М.: ГУГК. 260 с.
- Ходыкина МВ, Политыко ВА, Кырова ЕИ, Крутяков ЮА и др (2014) Антибактериальная активность антибиотиков в сочетании с препаратом серебра Зерокс® против возбудителей ряда бактериозов растений. *Защита картофеля* 2:83–86
- Abdellatif E, Valentini F, Janse JD, Bourri M et al (2013) Occurrence of crown gall of the grapevine in Tunisia and characterization of Tunisian *Agrobacterium vitis* and *A. tumefaciens* strains. *J Plant Pathol* 95(1):115–126
- Albuquerque N, Faize L, Burgos L (2017) Silencing of *Agrobacterium tumefaciens* oncogenes ipt and iaaM induces resistance to crown gall disease in plum but not in apricot. *Pest Manage Sci* 73(10):2163–2173
- Argun N, Momol MT, Maden S, Momol E et al (2002) Characterization of *Agrobacterium vitis* strains isolated from Turkish grape cultivars in the central Anatolia region. *Plant Disease* 86:162–166
- Bailey MA, Boerma HR, Parrott WA. (1994) Inheritance of *Agrobacterium tumefaciens*-induced tumorigenesis of soybean. *Crop Sci* 34(2):514–519
- Bosmans L, Álvarez-Pérez S, Moerkens R, Wittemans L, Van Calenberge B, Kerckhove SV, Paeleman A, De Mot R, Rediers H, Lievens B (2015) Assessment of the genetic and phenotypic diversity among rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 strains infecting solanaceous and cucurbit crops. *FEMS Microbiol Ecol* 91(8):fiv081
- Bosmans L, De Bruijn I, Gerards S, Moerkens R et al (2017) Potential for biocontrol of hairy root disease by a *Paenibacillus* clade. *Front Microbiol* 8:447
- Brenig B, Beck J, Schütz E (2010) Shotgun metagenomics of biological stains using ultra-deep DNA sequencing. *Forensic Science International: Genetics*. 4(4):228–231
- Burr T, Otten JL (1999) Crown gall of grape: biology and disease management. *Ann Rev Phytopathol* 37 (1):53–80
- Chilton MD, Saiki RK, Yadav N, Gordon MP et al (1980) T-DNA from *Agrobacterium* Ti plasmid is in the nuclear DNA fraction of crown gall tumor cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 77(7):4060–4064
- Conn HJ (1942) Validity of the genus *Alcaligenes*. *Journal of Bacteriology* 44:353–360
- De Cleene M, De Ley J (1976) The host range of crown gall. *Botany Rev* 42:389–466
- Escobar MA, Civerolo EL, Summerfelt KR, Dandekar AM (2001) RNAi-mediated oncogene silencing confers resistance to crown gall tumorigenesis. *Proc Nat Acad Sci USA* 98(23):13437–13442
- Escobar MA, Dandekar AM (2003) *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease *Trends Plant Sci* 8 (8):380–386
- Faist H, Keller A, Hentschel U, Deeken R (2016) Grapevine (*Vitis vinifera*) crown galls host distinct microbiota *Appl Environ Microbiol* 8 (18):5542–5552
- Flores-Mireles AL, Eberhard A, Winans SC (2012) *Agrobacterium tumefaciens* can obtain sulphur from an opine that is synthesized by octopine synthase using S-methylmethionine as a substrate *Mol Microbiol* 84:845–856
- Fuller SL, Savory EA, Weisberg AJ, Buser JZ et al (2017) Isothermal amplification and lateral-flow assay for detecting crown-call-causing *Agrobacterium* spp. *Phytopathol* 107(9):1062–1068
- Hao L, Kemmenoe DJ, Orel DC, Burr T (2018) The Impacts of Tumorigenic and Nontumorigenic *Agrobacterium vitis* Strains on Graft Strength and Growth of Grapevines. *Plant Disease* 102(2):375–381
- Hosni T, Moretti C, Devescovi G, Suarez-Moreno ZR et al (2011) Sharing of quorum-sensing signals and role of interspecies communities in a bacterial plant disease. *The ISME J* 5(12):1857–1870
- Ignatov AN, Khodykina MV, Vinogradova SV, Polityko VA et al (2016) First report of *Agrobacterium radiobacter vitis* causing crown galls of wine grape in Russia. *Plant Disease* 100(4):853
- Ignatov AN, Khodykina MV, Kromina KA, Dzhililov FSU (2017) Dynamics of microorganisms in hydroponic system of cucumber in response to *Agrobacterium* bv1 (root mat) infection. *SUITMA* 9 <http://www.suitma-russia.com/index.php/ru/home-ru/whatissuitma-ru>
- Kado CI (2014) Historical account on gaining insights on the mechanism of crown gall tumorigenesis induced by *Agrobacterium tumefaciens*. *Front Microbiol* 5:340–350
- Lang J, Vigouroux A, Planamente S., El Sahili A et al (2014). *Agrobacterium* uses a unique ligand-binding mode for trapping opines and acquiring a competitive advantage in the niche construction on plant host. *PLoS Pathog* 10:e1004444
- Lastra B, Llop P, Lopez MM (2000) Characterization of *Agrobacterium* strains isolated from grapevine in Galicia (Spain). *Proc Congr Eur Found Plant Pathol. Taormina (Italy)*:178–179
- Lopez MM (1978) Characteristics of French isolates of *Agrobacterium*. *Proc. 4th Int. Conf Plant Pathog Bact. Angers, France*:233–237

- Manulis S, Chalupowicz L, Dror O, Kleitman F (2002) Molecular diagnostic procedures for production of pathogen-free propagation material. *Pest Manag Sci* 58(11):1126–1131
- Mousavi SA, Österman J, Wahlberg N, Nesme X, Lindström K et al (2014) Phylogeny of the Rhizobium–Allorhizobium–Agrobacterium clade supports the delineation of *Neorhizobium* gen. nov. *Syst Appl Microbiol* 37(3):208–215
- Habbadi K, Benkirane R, Benbouazza A, Bouaichi A et al (2017) Biological control of grapevine crown gall caused by *Allorhizobium vitis* using bacterial antagonists. *Int J Science Res* 6:1390–1397
- Roberts WP, Kerr A (1974) Crown gall induction: serological reactions, isozyme patterns and sensitivity to mitomycin C and to bacteriocin, of pathogenic and non-pathogenic strains of *Agrobacterium radiobacter*. *Physiol Plant Pathol* 4:81–92
- Sawada H, Ieki H, Oyaizu H, Matsumoto S (1993) Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *Int J Syst Evol Microbiol* 43(4):694–702
- Sawada H, Ieki H, Takikawa Y (1990) Identification of grapevine crown gall bacteria isolated in Japan. *Ann Phytopath Soc Japan* 56:199–206
- Smith EF, Townsend CO (1907) A plant-tumor of bacterial origin. *Science* 25:671–673
- Tindall BJ (2014) *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942 has priority over *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend 1907) Conn 1942 when the two are treated as members of the same species based on the principle of priority and Rule 23a, Note 1 as applied to the corresponding specific epithets. Opinion 94. *Int J Syst Evol Microbiol* 64 (10):3590–3592
- Vizitiu (Bălășoiu) D, Dejeu L (2011) Crown gall (*Agrobacterium* spp.) and grapevine. *J Hortic, Forestry Biotechnol* 15(1):130–138
- Weller SA, Stead DE, Young JP (2004) Acquisition of an *Agrobacterium* Ri plasmid and pathogenicity by other α -Proteobacteria in cucumber and tomato crops affected by root rot. *Appl Environ Microbiol* 70(5):2779–2785
- White FF, Garfinkel DJ, Huffman GA, Gordon MP, Nester EW (1983) Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants. *Nature* 301(5898):348–350
- Young JM, Pennycook SR, Watson DRW (2006) Proposal that *Agrobacterium radiobacter* has priority over *Agrobacterium tumefaciens*. *Int J Syst Evol Microbiol* 56(2):491–493
- Yun HK, Roh JH, Park KS, Cha JS et al (2003) Screening system for crown gall resistance by pathogen inoculation in grapes. *Hortic Sci Technol* 21(4):325–328

Translation of Russian References

- Afonin AN, Grin SL, Dzyubenko NI, Frolov AN, eds (2008) *Agrotologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh gosudarstv: ekonomicheski znachimye rasteniya, ih vraditeli, bolezni i sornye rasteniya* [Agro-ecological atlas of Russia and adjacent states: economically significant plants, their pests, diseases and weed plants (Internet version 2.0)] (In Russian) <http://www.agroatlas.ru> (04.02.2019)
- Buntsevich LL, Vinter MA, Shcherbakov NA (2018) *Ozдорovlenie pitomnikov slivye i drugih kostochkovykh kultur ot bakterialnogo raka, sovmestnye metodicheskie pohodye* [Improvement in nurseries of plums and other stone fruits (drupes) crown-gall control, general method approaches Fruit growing and viticulture of the South of Russia] 50 (02) (In Russian) <http://journalkubansad.ru/aut/711/>
- Burdinskaya VF, Arestova NO (2010) *Latentnyy zarazhennoy vinograda bakterialnim rakom* [Latent infection of the grape with crown-gall]. *Protection and quarantine of plants* 10:3839 (In Russian)
- Gvozdiak RI, Pasichnik LA, Yakovlev LM, Moroz SM et al (2011) *Fitopatogenni bakterii. Bakterial'ni hvorobi roslin*. [Phytopathogenic bacteria. Bacterial diseases of plants]. Kiev. 444 p. (In Russian.). <http://journalkubansad.ru/pdf/18/02/06.pdf>
- Khodikina MV, Polytyko VA, Kyrova EI, Krutyakov YuA et al (2014) *Antibakterialnaya aktivnost antibiotikov v sochetanii s preparatom srebra Zeroks® protiv vzbuditelei ryada bakteriozov rasteniy* [Antibacterial activity of antibiotics in combination with a preparation of silver Zeroks® against bacterial pathogens of plants. *Protection of potatoes*] 2:83–86 (In Russian)
- Lazarev AM, Mysnyk EN, Varitsev YuA, Zaitsev IA et al (2017) *Areal'y i zony vredonosnosti osnovnykh bakteriozov rasteniy na territorii Rossiyskoy Federatsii i sopredel'nykh stran. Areas and zones of harm of the main bacterial diseases of plants on the territory of Russia and neighboring countries* [Areas and zones of harm of the main bacterial diseases of plants on the territory of Russia and neighboring countries] Appendix to the J “*Plant Protection News*” 24. St. Petersburg: VIZR. 136 p. (In Russian)
- List of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation. Reference Edition (2020). M. 832 p. (In Russian)
- Mager MK (1991) *Bakterialnyy kornevoy rak (Agrobacterium tumefaciens Smith et Towns.) plodovykh kultur i mery borby s nim* [Bacterial crown-gall (*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Towns.) of fruit cultures and measures to protect them]. Abstr PhD Biol Thesis. Priluki Minsk oblast. 22 p. (In Russian)
- Makarkina MV, Ilnitskaya ET, Stepanov IV (2017) *Identifikatsiya agrobakteriy metodom PTZR v rasteniyakh vinograda s priznakami porazheniya v ampelotsenozah Krasnodarskogo kraya* [Identification of agrobacteria by PCR method in grapevine plants with symptoms of crown-gall in ampeloceneses of the Krasnodar Territory]. *Rus Agr Sci* 4:39–42 (In Russian)
- Myalova LA (1990) *Kornevoy rak plodovykh kultur v usloviyakh uga Ukrainye i mery borby s nimi. Materialye konferentsii. Fitontsidy. Bakterialnyye bolezni rasteniy* [Crown-gall of fruit crops in the conditions of southern Ukraine and measures to control it. Materials of the conference. Phytoncides. Bacterial diseases of plants]. Kiev–Lvov 2:129–130 (In Russian)
- Nahapetyan ZhA, Kazaryan LV (1980) *Porazhayemost vinogradnikov Araratskoy ravniny bakterialnym rakom. Sostoyaniye i perspektivy razvitiya nauchnykh issledovaniy po predotvrashcheniyu rezistentnosti u vreditel'ey i vzbuditeley bolezney k pestitsidam i razrabotka effektivnykh mer borby s bakterial'nymi boleznyami rasteniy (tezisy dokladov na 4 mitin)* [The damage of Vineyards of the Ararat Plain by crown-gall Status and Prospects for the Development of Scientific Research on the Prevention of Pest and Pest Disease Pest Resistance and the Development of Effective Measures for Combating Bacterial Diseases of Plants (Theses of Reports for 4 meeting). Moscow:122–123 (In Russian)
- Tochenov VV, Markov VF, Belyaev LI et al, eds. (1984) *Atlas SSSR* [Atlas of the USSR]. Moscow:GUGK. 260 p. (In Russian)
- Voronina MV (2018) *Fitopatogennyye bakterii roda Agrobacterium: geneticheskoye raznoobraziye, diagnostika, mery zashchity* [Phytopathogenic bacteria of the genus *Agrobacterium*: genetic diversity, diagnosis, control]. Abstr PhD Thesis. Moscow. 21 p. (In Russian)

CROWN GALL DISEASE OF FRUIT TREES, BERRY PLANTS AND ORNAMENTALS CAUSED BY *AGROBACTERIUM* SPP.

A.M. Lazarev^{1*}, A.N. Ignatov^{2,3}, M.V. Voronina²

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

²Research Center “PhytoEngineering”, Rogachevo, Moscow region, Russia

³Russian University of Peoples’ Friendship, Moscow, Russia

*corresponding author, e-mail: allazar54@mail.ru

Over 100 families of plants (including 84 dicotyledonous) are affected by crown gall disease of fruit trees, berries and ornamental crops, caused by *Agrobacterium tumefaciens* and bacteria of related species and genera, for instance *Allorhizobium vitis*. The information on the symptoms of diseased plants in during vegetation and the soil-climatic conditions most favorable for the disease is presented. Taxonomy, morphological, physiological, and genetic properties of the causative agent are described. Area of harmfulness caused by the disease to crops in the territory of Russian Federation and neighboring countries is outlined. Methods of estimation of plant reaction to the pathogen, some resistant accessions, as well as measures of control with this disease are given.

Keywords: crown gall disease, taxonomy, symptomatology, prevalence, harmfulness, control measures

Received: 01.05.2019

Accepted: 02.05.2020

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13399>

Мини-обзор

РАЗВИТИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В АНАЛИТИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ВИЗР ПО ОЦЕНКЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ

М.О. Петрова, Т.Д. Черменская*, В.И. Долженко

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

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

Определение остаточных количеств пестицидов в продукции растениеводства и изучение их деградации представляет собой важную задачу при разработке и внедрении новых средств защиты растений. Аналитическая лаборатория ВИЗР занимается разработкой методик определения остаточных количеств пестицидов и определением остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции и объектах окружающей среды. Количество пестицидов, поступающих на рынок, увеличивается с каждым годом. Разрабатываются новые действующие вещества, совершенствуются препаративные формы, появляются новые комбинированные препараты. В 2018 г. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов пополнился 11 новыми фунгицидами, 9 инсектицидами, 9 протравителями, 19 новыми гербицидами, 5 регуляторами роста. За последние 2 года общий объем изучения остатков пестицидов в растительном сырье составил 170 единиц препаратов более, чем в 30 сельскохозяйственных культурах. При этом проконтролировано содержание порядка 100 действующих веществ, для чего подготовлено и проанализировано более 10 тысяч проб. По результатам исследований подготовлено более 900 отчетов. Разработано более 20 методик определения остаточных количеств пестицидов. Аналитическая лаборатория активно трудится и развивается, приходят новые сотрудники и аспиранты, увеличивается научный и творческий потенциал.

Ключевые слова: химические средства защиты растений, жидкостная и газовая хроматография, масс-спектрометрия, деградация пестицидов

Поступила в редакцию: 16.09.2019

Принята к печати: 27.05.2020

В “Положении о регистрационных испытаниях” записано, что их цель заключается в разработке и проверке регламентов использования пестицидов, обеспечивающих как эффективность, так и безопасность их применения для здоровья человека и окружающей среды. Какими бы привлекательными свойствами не обладал препарат в плане биологической эффективности защиты растений, он не может быть допущен к применению, если не соблюдены требования экотоксикологической безопасности. По этой причине изучение процессов деградации и определение

остаточных количеств пестицидов в продукции растениеводства имеет важное значение при разработке и внедрении новых средств защиты растений (СЗР). Исследования сельскохозяйственной продукции на содержание остаточных количеств пестицидов проводится в рамках регистрационных испытаний научно-исследовательскими учреждениями в соответствии со сферой их компетенции и областью аккредитации валидированными в лаборатории методами (Долженко и др., 2018). Эти задачи, а также разработка методов определения пестицидов, следует

считать наиболее приоритетными в работе аналитической лаборатории.

В нашей стране аналитические лаборатории стали возникать в 20-ые годы XX века; в 60-ые годы их стало более 16 тысяч, в настоящее время число подобных лабораторий еще больше. Практически каждое крупное предприятие имеет в своем составе контрольно-аналитическую лабораторию, проверяющую соответствие сырья и готовой продукции установленным нормативам. Наиболее сложные анализы выполняют аналитические лаборатории, которые обычно входят в структуру научно-исследовательских институтов.

Внутренняя структура лаборатории включает группы специалистов (химиков, инженеров, лаборантов), использующих различные методы анализа (хроматографические, спектральные, химические и т.д.). При этом химик руководит работой лаборантов. По мере автоматизации число лаборантов сокращается, а характер деятельности химика-аналитика меняется. От него требуется не только дать сведения о содержании того или иного вещества, но и интерпретировать эти данные, сформулировав конкретное экспертное заключение, за содержание которого аналитик несет персональную ответственность. В лаборатории проводится и методическая деятельность, основная цель которой состоит в разработке, совершенствовании и адаптации к запросам своего предприятия методик, используемых в каждом конкретном случае. Таким образом, аналитическая служба реализует достижения аналитической химии как науки, а та в свою очередь, обобщает опыт, накопленный практикой.

Аналитическая лаборатория ВИЗР была создана в связи с необходимостью формирования эффективного и безопасного ассортимента средств защиты растений в стране. В составе «Центра биологической регламентации использования пестицидов» лаборатория занимается разработкой методик определения остаточных количеств пестицидов и определением остаточных количеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции и объектах окружающей среды.

С 1998 года аналитическая лаборатория аккредитована Госстандартом РФ и регулярно проходит подтверждение своей компетентности в заявленной области в соответствующих официальных структурах.

Объем рынка химических средств защиты растений в несколько раз меньше объема рынка минеральных удобрений, при этом в 2014 г. глобальный рынок химических средств защиты растений превышал 52 млрд. долл. Темпы его роста в краткосрочной перспективе оцениваются в 3–5% ежегодно. По мнению зарубежных экспертов, к 2019 г. мировой рынок пестицидов достигнет 3.2 млн. т., стоимость рынка составит 81.1 млрд. долл. в 2019 г. (Долгова, 2015).

Предполагается, что рынок химических СЗР будет активно развиваться по причине сокращения пахотных земель и одновременного увеличения спроса на продовольствие в Индии и Китае, а также расширения непищевого использования сои и сахарного тростника в Бразилии и других странах. В качестве фактора, тормозящего рост рынка химических СЗР (ХСЗР), могут выступить инициативы регулирующих органов в развитых странах. Так, Агентство по защите окружающей среды США (US

Environmental Protection Agency) и Комитет по охране окружающей среды, здравоохранению и продовольственной безопасности Европарламента (Environment, Public Health and Food Safety Committee of Europarliament) ведут активную деятельность, направленную на уменьшение использования пестицидов. В частности, планируется сформировать перечень разрешенных к использованию на уровне ЕС действующих веществ, на основании которого будет осуществляться более строгое лицензирование ХСЗР в странах Евросоюза (Стратегия развития..., 2014).

Ещё одним серьезным фактором, ограничивающим развитие легального рынка ХСЗР, является широкое распространение контрафактных и поддельных пестицидов. Необходимость противодействия нелегальным производителям вынуждает добросовестные компании увеличивать затраты на обеспечение безопасности поставок, дополнительную маркировку и сертификацию (Малков и др., 2015).

Точные данные по объемам продаж контрафактных пестицидов отсутствуют, однако, по оценкам европейских экспертов, в некоторых, прежде всего развивающихся, странах они достигают 25% от всех используемых пестицидов. В ЕС доля нелегальных ХСЗР составляет от 400 млн до 1.2 млрд Евро, что составляет 5–15% от общего объема рынка пестицидов регионального объединения. В целом можно ожидать, что спрос на минеральные удобрения и пестициды в среднесрочной перспективе будет определяться ростом населения планеты и необходимостью обеспечения глобальной продовольственной безопасности. Несомненно, свою роль сыграет политика в области поддержки сельхозпроизводителей, направленная на увеличение использования средств химизации (Лыжин, 2016).

В 2018 г. Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов пополнен новыми препаратами. Было зарегистрировано 11 новых фунгицидов, 9 инсектицидов, 2 фунгицидных и 7 инсектицидных протравителей, 19 новых гербицидов, 5 регуляторов роста. На территории РФ в этот год было использовано 65 тыс. тонн пестицидов. Было применено 63.48 тыс. тонн ХСЗР, что составило 97.6% от общего объема использованных пестицидов. Лидером являются гербициды. Пестицидная нагрузка составила 1.31 кг/га (по препарату) (Говоров и др., 2018).

Ассортимент пестицидов в нашей стране также постоянно расширяется (Список пестицидов..., 2019).

Необходимостью постоянного контроля за содержанием остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье, объектах природной среды обусловлена разработка новых современных методик на основе газовой хроматографии (ГХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В 1999 году в аналитической лаборатории были исследованы 24 препарата, в том числе 9 инсектицидов, 7 фунгицидов и 8 гербицидов. Это около 30 действующих веществ, включая их токсичные метаболиты, которые требуют контроля их содержания в растительной продукции и объектах окружающей среды. Всего было проанализированы 85 “динамик” разложения этих веществ и определены их остаточные количества в урожае. “Динамика” – серия проб, отобранных через равные промежутки времени после обработки растений исследуемым

пестицидом. Пробы растительных образцов для анализа указанных препаратов отбирались в 12 регионах России, а также и в Молдове, где испытывался инсектицид Релдан, КЭ на винограде. Испытания препаратов проходили на следующих культурах: виноград, яблоня, подсолнечник, горох, картофель, томаты и огурцы открытого и защищенного грунта, зерновые культуры (яровые и озимые), пастбищные травы. Приборное оснащение лаборатории было достаточным и включало на тот момент 5 газовых и 1 жидкостной хроматограф. Напряженность оставалась только в части капиллярной газовой хроматографии. Тенденции применения пестицидов в сельском хозяйстве, связанные с уменьшением дозировок и применением смешанных препаратов, содержащих несколько действующих веществ, влекли за собой необходимость использования в контроле их содержания капиллярных колонок. Поскольку 100%-ая очистка пробы от сопутствующих компонентов на уровне микроконцентраций практически невозможна, главное достоинство хроматографии – возможность разделения и количественного определения компонентов сложных смесей, должно использоваться все в большей степени. Это значит, что капиллярная газожидкостная хроматография становится все актуальнее.

В 2000 году объем работ по изучению “динамики” деградации пестицидов и оценке их содержания в урожае, выполненных в ВИЗР, несколько увеличился по сравнению с 1999 г. Были проведены исследования 37 препаратов, содержащих 32 различных действующих вещества, в том числе 9 инсектицидов, 4 фунгицида и 24 гербицида в различных препаративных формах. Все изучаемые в лаборатории на этот год препараты были произведены 24-мя различными фирмами, включая 5 российских. Испытывались эти пестициды на 23 различных сельскохозяйственных культурах, пробы отбирались в 3-х почвенно-климатических зонах России, в 18 регионах. В общей сложности в лаборатории были проведены исследования по изучению 45 “динамик” разрушения пестицидов и 102 оценки остаточных количеств в урожае.

В 2002 г. по плану исследований в аналитической лаборатории были исследованы 70 препаратов, в том числе 27 инсектицидов, 12 фунгицидов и 31 гербицид на различных

сельскохозяйственных культурах и почве из различных регионов России. В течение 2002 года сотрудники лаборатории проанализировали более 3 тысяч проб различной сельскохозяйственной продукции: зерновых, кормовых, технических, плодово-ягодных и овощных культур, а также пробы почвы из-под посевов сои, обработанных гербицидом. Всего в 2002 году было изучено 158 “динамик” деградации пестицидов в растительных объектах с момента обработки включая урожай, и проведено 194 эксперимента по определению остаточных количеств пестицидов в урожае. Анализ урожая включает, как правило, 4 пробы (зерно-солома, семена-масло, ягоды-сок, ботва-корнеплоды) в контроле и опыте + 2 пробы, которые готовит аналитик внесением действующего вещества в контрольные образцы для определения полноты извлечения пестицида из растительной ткани в процессе подготовки пробы к хроматографическому анализу. Таким образом, всего должно быть проанализировано 6 проб, не считая приготовления серии стандартных растворов для градуировки хроматографа. Анализ только одной пробы занимает у аналитика не меньше 4 часов.

В 2002 году лаборатория прошла две переаккредитации. Мы получили аттестат аккредитации Госстандарта РФ как аналитическая лаборатория, компетентная в анализе любых пестицидов всех групп и химических классов методами газовой и жидкостной хроматографии. Аналитическая лаборатория стала единственной лабораторией в России, имеющей такую область аккредитации. Как правило, область аккредитации содержит определенное число поименованных действующих веществ и только по этим пестицидам лаборатория может проводить анализы, ссылаясь на свою аккредитацию. Вторая аккредитация – ведомственная, в системе Минздрава – дала нам право на разработку методик определения остаточных количеств пестицидов в воде, почве и растительных объектах, и представление их на утверждение в Федеральную комиссию Департамента Госсанэпиднадзора для признания их официальными и опубликования в сборниках методических указаний.

Количество изученных препаратов постепенно возросло от 30 до 90 с 2001 по 2005 гг. (табл. 1).

Таблица 1. Объем исследований и разработок аналитической лаборатории ВИЗР в период 2001–2005 гг.

Год	Количество изученных препаратов (д.в.)	Инсектициды	Фунгициды	Гербициды	Количество отчетов (по “динамике” деградации + по остаточным количествам в урожае)	Количество разработанных и утвержденных методик
2001	30 (26)	11	3	16	126 (43 + 83)	3
2002	70 (49)	27	12	31	261 (158 + 194)	6
2003	65 (45)	20	23	22	185 (119 + 141)	10
2004	81 (58)	34	19	28	251 (173 + 199)	12
2005	90 (59)	18	26	46	260 (81 + 209)	12

В результате, за 5 лет изучен характер деградации в растениях 102 действующих веществ, (в том числе 24 инсектицида и акарицида, 32 фунгицида и протравителя и 46 гербицидов и десикантов), входящих в состав 336 препаратов различных фирм-производителей.

В плане регистрационных испытаний сезона 2006 года, по определению остаточных количеств пестицидов в аналитической лаборатории было изучено 172 препарата, включающих 92 различных действующих вещества. В этом сезоне у нас было 40 инсектицидов, 42 фунгицида

и 90 гербицидов, десикантов и регуляторов роста. Было подготовлено 709 отчетов.

Объем работ с использованием жидкостной хроматографии с каждым годом увеличивается. В марте 2005 года приобретен второй жидкостной хроматограф – Breeze, тоже фирмы Waters в простой модификации, пригодный для рутинных анализов. В январе 2006 года произошло очень радостное событие в нашей лаборатории – приобретен еще один жидкостной хроматограф фирмы Waters – уже не высокоэффективный, а ультраэффективный

жидкостной хроматограф Waters Acquity UPLC, единственный в Петербурге на то время (в Москве таких приборов было два – в Медико-генетическом научном центре им. академика Н.П. Бочкова и в Управлении МВД).

В 2007 году аналитическая лаборатория была повторно аккредитована в системе Минздрава РФ (Сертификат аккредитации СА 13.121, действителен до 03.04.2013 г.), что дало ей право на участие в Регистрационных испытаниях и разработку методов контроля остаточных количеств пестицидов всех химических групп в продукции растениеводства, почве и воде водоемов для их последующего утверждения в качестве официальных методов контроля.

В 2010 году лаборатория подтвердила свою компетентность в проведении анализов остаточных количеств пестицидов и определении содержания действующих веществ в препаратах. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии продлило аттестат аккредитации аналитической лаборатории до 01.09.2015 г. (Аттестат аккредитации аналитической лаборатории (центра) № РОСС RU.0001.513410 от 27.06.2005 г.)

В 2011 году лаборатория подтвердила свою компетентность в проведении анализов остаточных количеств пестицидов и определении действующих веществ в препаратах пестицидов, пройдя инспекционный контроль, обязательный для аккредитованных лабораторий. Объемы выполняемых работ в аналитической лаборатории при этом продолжает увеличиваться. По результатам выполненных исследований в 2011 г. было составлено 915 отчетов.

В соответствии с планом научно-исследовательских работ на 2012 год осуществлялся контроль остаточных количеств пестицидов из разных (инсектицидов, фунгицидов, гербицидов) групп в сельскохозяйственном сырье и почве (табл. 2) как в день уборки урожая (1752 пробы), так и в «динамике» от момента обработки до урожая (5244 проб). Анализы выполнялись методом ВЭЖХ и газожидкостной хроматографии (ГЖХ) для 30 сельскохозяйственных культур. Освоен и введен в практику анализа новый метод – ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС). Общий объем изучения остатков пестицидов в растительном сырье и почве составил более 186 единиц препаратов с явным преобладанием средств борьбы с сорными растениями. При этом проконтролировано содержание 97 имеющихся в арсенале защиты растений действующих веществ, для чего подготовлено и проанализировано около 7 тысяч проб. По результатам исследований подготовлено 758 отчетов. В процессе исследований и по их результатам было разработано и представлено на утверждение 12 методик определения остаточных количеств пестицидов в растительном материале, почве и воде. Все методики получили утверждение Федеральной комиссии Роспотребнадзора и приобрели статус

Таблица 2. Объем аналитических исследований, проведенных в 2012 году

Группы пестицидов	Изучено, шт.		
	препаратов	действующих веществ	количество образцов
Инсектициды	54	22	3680
Фунгициды	46	29	1704
Гербициды	86	46	1612
Всего	186	97	6996

официальных методов контроля пестицидов в сельскохозяйственной продукции и объектах окружающей среды. Кроме этого, 11 методик, разработанных в аналитической лаборатории ГНУ ВИЗР в 2012 г., внесены в Федеральный реестр методик выполнения измерений (ФР).

В соответствии с планом научно-исследовательских работ на 2013 год осуществлялся контроль остаточных количеств пестицидов разных групп в сельскохозяйственном сырье и почве как в день уборки урожая (2629 проб), так и в «динамике» от момента обработки до урожая (5257 проб). Анализы были выполнены методом ВЭЖХ, методом ГЖХ, а также методом ВЭЖХ-МС. Общий объем изучения остатков пестицидов в растительном сырье и почве составил 215 единиц препаратов (табл. 3). При этом проконтролировано содержание 107 имеющихся в арсенале защиты растений действующих веществ, для чего подготовлено и проанализировано около 8 тысяч проб. По результатам исследований подготовлено 955 отчетов (по инсектицидам – 430, фунгицидам – 212 и гербицидам 313). Было разработано и представлено на утверждение 12 методик определения остаточных количеств пестицидов в растительном материале, воде и почве. В сборниках методических указаний, изданных Роспотребнадзором в 2013 году опубликовано 8 методических указаний, разработанных в аналитической лаборатории ГНУ ВИЗР в 2012 году.

Таблица 3. Объем аналитических исследований, проведенных в 2013 году

Группы пестицидов	Изучено, шт.		
	препаратов	действующих веществ	количество образцов
Инсектициды	60	35	4282
Фунгициды	58	30	1882
Гербициды	97	42	1722
Всего	215	107	7886

В 2015 году лаборатория заново прошла аккредитацию в Росаккредитации, в связи с реорганизацией структуры и системы Государственной аккредитации испытательных лабораторий, и получила бессрочный аттестат аккредитации (RA.RU.513410, дата включения в реестр аккредитованных лиц: 04.12.2015 г.).

Методики измерений разрабатывают и применяют с целью обеспечить выполнение измерений с требуемой точностью. По сути, методика это – совокупность конкретно описанных операций, выполнение которых обеспечивает получение результатов измерений с установленными показателями точности

Разработка методик (методов) измерений осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ Р 8.563-2009 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений» и на основании исходных данных Заказчика, которые формируются в техническом задании (технических условиях или других документах)

Для качественного обнаружения и количественного определения остаточных количеств пестицидов наша лаборатория использует жидкостную и газовую хроматографию.

В соответствии с развитием более современных хроматографических методов, определение пестицидов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) практически не

используется (рис.). Количество разрабатываемых методик с использованием ГЖХ постепенно снижается, тогда как ВЭЖХ метод становится все более актуальным (Alder et al., 2006). В последние годы все чаще применяется метод ВЭЖХ-МС.

Масс-спектрометрия – наиболее мощный и многоцелевой метод анализа, основанный на переводе молекул образца в ионизованную форму с последующим разделением и регистрацией образующихся при этом положительных и отрицательных ионов. Масс-спектр позволяет сделать выводы о молекулярной массе соединения, его составе и структуре. Достоинства этого метода – чувствительность, скорость, информационность. Прецизионность масс-спектрометрического анализа очень высока, поскольку масс-спектр является реальной характеристикой конкретного вещества (Botitsi et al., 2010).

Методы пробоподготовки также активно совершенствуются. В частности, все более широко применяется метод QuEChERS (Anastassiades, Lehotay, 2003). В нем стадии классической процедуры заменены на более простые и быстрые – вместо фильтрования – центрифугирование, а вместо твердофазной экстракции (ТФЭ) на патронах – дисперсионная ТФЭ. То есть, в одной емкости происходит экстракция и перераспределение, а во второй – очистка сорбентом (Петрова, Черменская, 2019). В нашей лаборатории с каждым годом увеличивается количество методик, разработанных с данным методом пробоподготовки. Но, к сожалению, использование QuEChERS применимо не ко всем пестицидам и матрицам, в которых их обнаруживают (Dong et al., 2015). Так понадобилось модифицировать этот подход, чтобы получить приемлемую полноту извлечения аметоктрадина при экстракции из почвы. Однако при извлечении аналита из растительного материала уже не удалось достичь выхода более 70% и пришлось обратиться к классическим методам экстракции и очистки (Komarova et al., 2017).

За период 2017–2018 гг. общий объем изучения остатков пестицидов в растительном сырье составил 170

единиц препаратов на более, чем 30 сельскохозяйственных культурах. При этом проконтролировано содержание порядка 100 действующих веществ, для чего подготовлено и проанализировано более 10 тысяч проб. По результатам исследований подготовлено более 900 отчетов.

На сегодняшний день, лаборатория оснащена современным оборудованием:

- 4 жидкостных хроматографа с ультрафиолетовыми и флуоресцентным детекторами (Waters);
- жидкостный хромато-масс-спектрометр Bruker EVOQ Cube (Bruker) с тройным квадруполем;
- 5 газовых хроматографов с капиллярными колонками с различными детекторами (ЭЗД, ТИД, ПИД) (Кристалл, Маэстро, Agilent);
- полным комплексом современного вспомогательного оборудования, необходимого для проведения исследований.

Количество пестицидов, поступающих на рынок, увеличивается с каждым годом. Разрабатываются новые действующие вещества, совершенствуются препаративные формы, появляются новые комбинированные препараты, состоящие из 2х-3х компонентов с инсектицидными и фунгицидными свойствами взамен баковых смесей, применяемых ранее.

Ежегодно ВИЗР совместно с ООО «ИЦЗР» представляет не менее 10 методик анализа пестицидов, которые после тестирования и утверждения Роспотребнадзором РФ приобретают статус государственных, то есть могут и должны использоваться для контроля содержания пестицидов любыми аналитическими лабораториями, в задачи которых входит мониторинг окружающей среды, анализ сельскохозяйственной продукции и продуктов питания.

Аналитическая лаборатория активно трудится и развивается, приходят новые сотрудники и аспиранты, увеличивается научный и творческий потенциал. Объем выполняемых работ и их количество постоянно растет.

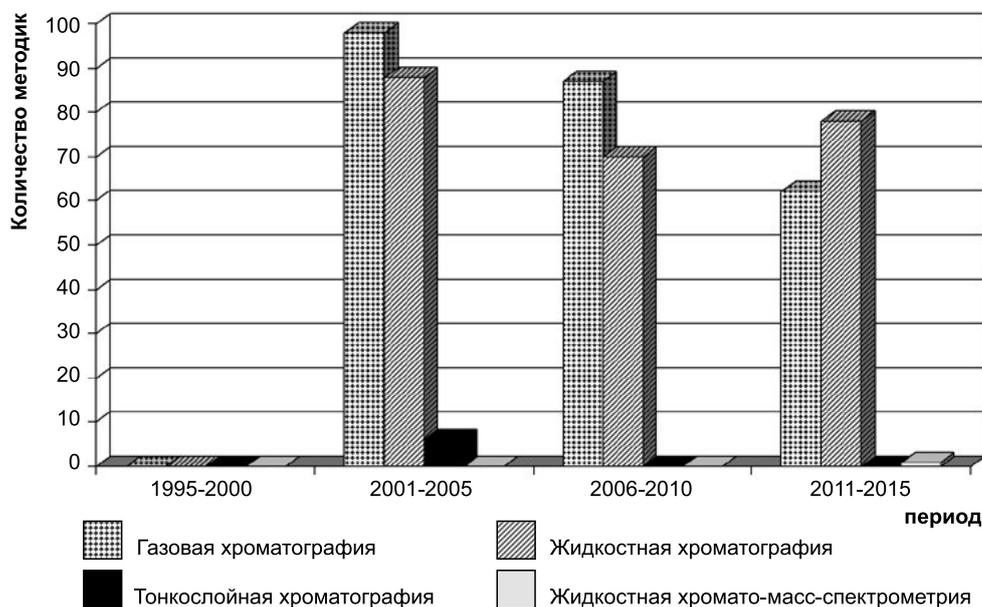


Рисунок. Разработанные в лаборатории методические указания (МУК) (1995–2015 гг.)

Библиографический список (References)

- Говоров ДН, Живых АВ, Шабельникова АА (2019) Применение пестицидов. Год 2018-й. *Защита и карантин растений* 46:5–6.
- Долгова АВ (2015) Рынок средств защиты растений в мире и России: тенденции, динамика, прогнозы. Материалы VII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». <https://scienceforum.ru/2015/article/2015017573> (15.07.2019)
- Долженко ВИ, Лаптиев АБ, Буркова ЛА, Долженко ОВ, Кунгурцева ОВ и др (2018) Методические указания по регистрационным испытаниям пестицидов в части биологической эффективности. Общая часть. М. 61 с.
- Лыжин ДН (2016) Современные тенденции мирового рынка минеральных удобрений и средств защиты растений: конкурентные позиции России. *Проблемы национальной стратегии* 3(36):123–141.
- Малков М, Прищепа С, Кутонова Т (2015) Противодействие контрафакту и контрабанде пестицидов. Методология. ОБСЕ, Международная инициатива «Окружающая среда и безопасность» (ENVSEC). 48 с.
- Петрова МО, Черменская ТД (2019) Поиск остаточных веществ пестицидов в сельскохозяйственной продукции – путь к безопасному продовольствию. *Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера»* 11(1):40–47. <http://doi.org/10.24855/biosfera.v11i1.468>
- Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации (2019). Справочное издание. М. 848 с.
- Стратегия развития химического и нефтехимического комплекса РФ на период до 2030 года, приказ Минпромторга России и Минэнерго России от 8 апреля 2014 г. N 651/172 (2014).
- Alder L, Greulich K, Kempe G, Vieth B (2006) Residue Analysis of 500 High Priority Pesticides: Better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrom Rev* 25(6):838–865. <http://doi.org/10.1002/mas.20091>
- Anastassiades M, Lehotay SJ. (2003) Fast and Easy Multiresidue Method Employment Acetonitrile Extraction Partitioning and “Dispersive Solid-Phase Extraction” for the Determination of Pesticide Residues in Produce. *JAOAC Int* 86:412.
- Botitsi HV, Garbis SD, Economou A, Tsipi DF (2010) Current Mass Spectrometry Strategies for the Analysis of Pesticides and Their Metabolites in Food and Water Matrices. *Mass Spectrom Rev* 30(5):907–939. <http://doi.org/10.1002/mas.20307>.
- Dong M, Han W, Ediage EN, Fan L, Tang H, Wang W, Han L, Zhao Z, Song W, Han Z (2015) Dissipation kinetics and degradation mechanism of amicarbazone in soil revealed by a reliable LC-MS/MS method *Environ Sci Pollut Res Int* 22: 17518–17526. <http://doi.org/10.1007/s11356-015-4899-3>.
- Komarova AS, Chermenskaya TD, Chelovechkova VV (2017) Determination of ametoctradin in plant residues and environmental samples by HPLC with an UV Detector. *J Analyt Chem* 72(10):1077–1082.

Translation of Russian References

- Govorov DN, Zhivykh AV, Shabelnikova AA (2019) [The use of pesticides. Year 2018]. *Zashchita i karantin rasteniy* 46:5–6. (In Russian)
- Dolgova AV (2015) [The market of plant protection products in the world and in Russia: trends, dynamics, forecasts] *Materialy VII Mezhdunarodnoy studencheskoy nauchnoy konferencii «Studencheskiy nauchny forum»* [VII International Student Scientific Conference «Student Scientific Forum»]. <https://scienceforum.ru/2015/article/2015017573> (15.07.2019) (In Russian)
- Dolzhenko VI, Laptiyev AB, Burkova LA, Dolzhenko OV, Kungurtseva OV i dr (2018) *Metodicheskiye ukazaniya po registratsionnym ispytaniyam pestitsidov v chasti biologicheskoy effektivnosti. Obshchaya chast* [Guidelines for registration tests of pesticides in terms of biological effectiveness. A general part]. М. 61 p. (In Russian)
- Lyzhin DN (2016) [Current trends in the global market of mineral fertilizers and plant protection products: Russia's competitive position]. *Problemy natsionalnoy strategii* 3(36):123–141. (In Russian)
- Malkov M, Prishchepa S, Kutonova T (2015) *Protivodeystviye kontrafaktu i kontrabande pestitsidov. Metodologiya*. [Counteraction to counterfeiting and smuggling of pesticides. Methodology. OSCE, International Environment and Security Initiative (ENVSEC)]. *OBSE, Mezhdunarodnaya initsiativa «Okruzhayushchaya sreda i bezopasnost»* (ENVSEC). 48 p. (In Russian)
- Petrova MO, Chermenskaya TD (2019) [Finding pesticide residues in agricultural products is the path to safe food]. *Mezhdistsiplinarnyy nauchnyy i prikladnyy zhurnal «Biosfera»* 11(1):40–47. (In Russian) <http://doi.org/10.24855/biosfera.v11i1.468>
- List of pesticides and agrochemicals approved for use in the Russian Federation (2019). Reference edition. М. 848 p. (In Russian)
- The development strategy of the chemical and petrochemical complex of the Russian Federation for the period until 2030, order of the Ministry of Industry and Trade of Russia and the Ministry of Energy of April 8, 2014 N 651/172 (2014). (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(2), p. 93–99

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13399>

Mini-review

DEVELOPMENT OF THE RESEARCH TO ASSESS RESIDUAL PESTICIDES IN THE ANALYTICAL LABORATORY OF VIZR

M.O. Petrova, T.D. Chermenskaya*, V.I. Dolzhenko

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

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

The determination of residual pesticides in crop production and the study of their degradation is an important task in the development and implementation of new plant protection products. Analytical laboratory in VIZR develops the methods for determining the residual pesticides and evaluating residual pesticides quantities in the agricultural products and environmental objects. The number of pesticides entering the market increases every year. New active ingredients are developed, formulations are improving, and new combined preparations appear. Eleven new fungicides, 9 insecticides, 9 disinfectants, 19 new herbicides, 5 growth regulators were added to the State catalog of pesticides and agrochemicals

in 2018. Over the past 2 years, the total number of pesticide residues in plant materials studied has reached 170 units of preparations in more than 30 agricultural crops. The content of about 100 active substances has been monitored, for which more than 10 thousand samples have been prepared and analyzed. Based on the research results, more than 900 reports have been prepared. More than 20 methods for the determining residual pesticides have been developed. The analytical laboratory is actively working and developing, new employees and graduate students join the research group, its scientific and creative potential increases.

Keywords: plant protection chemical products, liquid and gas chromatography, mass spectrometry, pesticide degradation

Received: 16.09.2019

Accepted: 27.05.2020

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13347>

Полнотекстовая статья

УСТОЙЧИВОСТЬ ДИКИХ ВИДОВ И ГИБРИДОВ КАРТОФЕЛЯ К АЛЬТЕРНАРИОЗУ И ФИТОФТОРОЗУ

Н.М. Зотеева¹, В.В. Васипов¹, А.С. Орина^{2*}

¹Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: orina-alex@yandex.ru

Альтернариоз и фитофтороз относятся к наиболее вредоносным заболеваниям листового аппарата картофеля и вызывают значительные экономические потери во многих регионах выращивания этой культуры. Поиск доноров устойчивости к этим болезням представляет собой приоритетное направление селекции картофеля. В настоящей работе изучен 21 образец диких видов *Solanum* и межвидовых гибридов с различными родословными. Оценку реакции растений на заражение фитопатогенами *Alternaria solani* и *Phytophthora infestans* проводили в лабораторных условиях при инокуляции листовых дисков и долей листьев, соответственно. Все исследованные образцы картофеля продемонстрировали симптомы альтернариоза и фитофтороза после инокуляции, однако значительно различались по чувствительности к патогенам. Инокуляция грибом *A. solani* приводила к развитию некрозов, в среднем занимающих от 1.2% до 11.5% площади листового диска образцов картофеля. После инокуляции оомицетом *P. infestans* интенсивность развития симптомов поражения на листовых долях всех анализируемых образцов картофеля варьировала от 3 до 9 баллов по 9-балльной шкале. Выявлены 6 фенотипов картофеля, представленных одним видовым образцом и 5 межвидовыми гибридами, сочетающих устойчивость к альтернариозу и фитофторозу.

Ключевые слова: *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Solanum* spp., искусственная инокуляция, межвидовой гибрид

Поступила в редакцию: 16.03.2020

Принята к печати: 14.05.2020

Введение

Картофель *Solanum tuberosum* L. выращивается во всем мире в регионах с континентальным, умеренным, субтропическим и тропическим климатом, будучи одной из основных культур, четвертой по важности после риса, пшеницы и кукурузы (Zeng et al., 2014). К основным экономически значимым болезням культивируемого картофеля, поражающим листовую аппарат растений, относятся альтернариоз и фитофтороз (Thomma, 2003; Fry, 2008). Представители рода *Alternaria* Nees встречаются повсеместно в зоне выращивания пасленовых культур, при этом с картофелем ассоциированы виды *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *Alternaria arborescens* E.G. Simmons, *Alternaria grandis* E.G. Simmons, *Alternaria protenta* E.G. Simmons, *Alternaria solani* Sorauer и *Alternaria tenuissima* (Kunze) Wiltshire (Rodrigues et al. 2010; Zeng et al., 2014; Tymon et al., 2016; Ayad et al. 2019). Вид *A. solani* является

наиболее экономически важным возбудителем альтернариоза, поскольку из-за сильной дефолиации во время эпифитотий, вызванных этим грибом, происходит значительное снижение урожая картофеля (Shtienberg et al. 1990; Leiminger, Hausladen, 2012). В среднем, потери картофеля от альтернариоза составляют около 20%, однако при отсутствии химических обработок или в сочетании с другими болезнями могут достигать 70–80% (Jansky et al., 2008).

Наиболее распространенный способ контроля заболевания – применение фунгицидов (Abuley, Nielsen, 2017). Однако, грибы *Alternaria* способны вырабатывать резистентность к действующим веществам препаратов из различных классов, что снижает эффективность химической защиты (Pasche et al., 2005; Mallik et al., 2014; Yang et al., 2019). Устойчивость растения к патогену выступает

действенным компонентом системы мер, направленных на снижение потерь урожая (Jansky et al. 2008; Weiya et al., 2019).

Фитофтороз картофеля, вызываемый *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, приводит к огромным финансовым потерям. Высокая вредоносность патогена объясняется половым процессом размножения и наличием двух типов спаривания, при которых происходит рекомбинация генов вирулентности и постоянно образуются новые, высоко агрессивные расы (Cohen, 2002; Fry, 2008). При эпифитотийном развитии заболевания требуется частое применение фунгицидов, иногда более чем раз в неделю. При этом в популяциях *P. infestans* вырабатывается резистентность ко многим действующим веществам (Randall

et al., 2014; Matson et al., 2015). Для создания устойчивых к фитофторозу сортов картофеля во всем мире широко используется метод межвидовой гибридизации, заключающийся в интрогрессии генов устойчивости от видов рода *Solanum* L. при создании пред-бридингового материала для селекции (Chen et al., 2017; Bethke et al., 2017; Зотеева и др., 2017). Дикие виды картофеля зарекомендовали себя как ценные доноры устойчивости к болезням (Bradshaw, Ramsay, 2005; Зотеева и др., 2017).

Цель исследования состояла в выявлении генотипов, устойчивых к альтернариозу и фитофторозу, среди образцов и межвидовых гибридов картофеля от скрещиваний с разными видами рода *Solanum*.

Материал и методы

Объектами исследования служили сеянцы 21 образца, среди которых 5 относятся к диким видам картофеля: *Solanum guerreroense* Corr. (grr), *Solanum kurtzianum* Bitt. & Wittm. (ktz), *Solanum neoantipoviczii* Buk. (nan), *Solanum parodii* Juz. & Buk. (par), *Solanum spegazinii* Bitt. (spg) и гибридам различного происхождения, полученным в скрещиваниях с grr, nan, *Solanum microdontum* Bitt. (mcd), *Solanum tarijense* Hawk. (tar), *Solanum tuberosum* L. (tub), *Solanum tuberosum* Group Andigena (adg) Juz. & Buk., *Solanum tuberosum* Group Phureja (phu) Juz. & Buk. и R5 (*Solanum demissum* Lindl. × *S. tuberosum*) из коллекции ВИР. Расщепляющиеся популяции девяти взятых в изучение исходных образцов охарактеризованы ранее в полевых и/или лабораторных опытах (Зотеева и др., 2017; Зотеева, 2019; Zoteyeva, 2000; Zoteyeva et al., 2012).

Сеянцы картофеля выращивали в горшках объемом 1.2 л, наполненных садовой почвой, при освещении натриевыми зеркальными лампами (46000 лк) и температурном режиме 23 °С (день) и 17 °С (ночь). Полив растений проводили дозированно. Для оценки устойчивости собирали листья с растений в период их цветения (через 2.5 месяца после посева).

Оценку устойчивости всех образцов картофеля к возбудителю альтернариоза проводили в лабораторных условиях заражением листовых дисков образцов растений суспензией смеси конидий трех штаммов *A. solani*. Из коллекции фитопатогенных микроорганизмов лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР были выбраны штаммы *A. solani* различного происхождения: MFP 046011 (*S. tuberosum*, Приморский край, 2006), MFP 628031 (*S. kurtzianum* на *Solanum megistacrolobum* Bitt., Адыгея, 2008), MFP 747151 (*S. tuberosum*, Камчатский край, 2011). Патогенные свойства и видовая принадлежность выбранных штаммов грибов были изучены ранее (Орина и др., 2014; Gannibal et al., 2014). Для получения инокулюма штаммы *A. solani* выращивали в чашках Петри на среде V4 в течение 7 сут по методике, разработанной ранее для грибов *Bipolaris* Shoemaker (Михайлова и др., 2002). Инокулюм получали смывом конидий непосредственно с колоний в стеклянных чашках Петри, добавляя 5 мл

стерильной водой с tween-60 (0.01%). Определение концентрации производили подсчетом числа конидий в камере Горяева, после чего разбавляли суспензию до концентрации 5×10^3 конидий/мл стерильной водой.

Пробочным сверлом из листьев вырезали диски диаметром 10 мм. Диски помещали в герметичные пластиковые контейнеры, стерилизованные спиртом, на увлажненную фильтровальную бумагу. В центр диска наносили каплю 10 мкл суспензии конидий, в контроле на диск наносили 10 мкл стерильной воды. Влажную камеру инкубировали в термостате MLR-352H-PE (Panasonic, Япония) в режиме: 16 ч освещения люминисцентными лампами при 24 °С и 8 ч. темноты при 18 °С. Проводили заражение 15 листовых дисков каждого образца. Учет заражения проводили визуально, оценивая процент площади некроза листового диска на 3 сут. Устойчивыми считали образцы с площадью поражения листового диска 4% и ниже.

Оценку устойчивости образцов картофеля к возбудителю фитофтороза проводили, используя метод заражения отделенных долей листьев среднего яруса растений (Zarzycka, 2001). Для инокуляции использовали штамм *P. infestans*, в котором предварительно с помощью набора растений-дифференциаторов (Black et al., 1953) были идентифицированы 9 генов вирулентности (1.2.3.4.6.7.9.10.11). Выбранный штамм *P. infestans* размножали на листьях восприимчивого сорта Дориза. Инокулюм получали путем смыва с поверхности пораженных листьев стерильной водой с последующей фильтрацией и разбавляли до концентрации 5×10^4 зооспор/мл. Заражение шести долей листьев среднего яруса каждого образца проводили нанесением капли инокулюма на среднюю часть листовой пластинки рядом с центральной жилкой. Степень поражения оценивали на 7-е сутки после заражения по 9-балльной шкале, где балл 9 обозначает полное отсутствие симптомов болезни, а балл 1 – полностью пораженную поверхность доли листа. Устойчивыми считали растения, где поражение листьев оценивали баллами: от 9 до 6. Балл 5 соответствует умеренной устойчивости, баллы от 4-х и ниже означают чувствительность тестируемых растений.

Результаты

Через 4 суток после инокуляции грибом *A. solani* на листовых дисках всех образцов картофеля, включенных в исследование, развивались некрозы, занимающие от 1.2% до 11.5% площади листового диска (табл.).

Наиболее устойчивыми к альтернариозу при искусственной инокуляции оказались сеянцы шести образцов: *S. spegazinii* к-ВИР 11974, гибриды *S. guerreroense* × R5 и *S. guerreroense* × Superb-1, *S. microdontum* × *S. tarijense*,

Таблица. Устойчивость образцов диких видов и межвидовых гибридов картофеля к возбудителям альтернариоза и фитофтороза при искусственной инокуляции

№	Вид, видовой состав гибрида	Площадь некроза, вызываемого <i>Alternaria solani</i> , % ± ДИ	Характеристика устойчивости к альтернариозу	Балл поражения, вызываемого <i>Phytophthora infestans</i>	Характеристика устойчивости к фитофторозу
1	ktz* к-ВИР 12488	6.2 ± 0.6	MR**	4	S
2	par к-ВИР 8280	4.4 ± 0.2	MR	3	S
3	spg к-ВИР 11974	1.2 ± 0.2	R	6	R
4	nan	6.0 ± 0.7	MR	8	R
5	nan, phu	11.0 ± 1.2	S	8	R
6	nan, mcd, tar, adg	9.4 ± 0.8	S	7	R
7	nan, сорт Desirée	4.8 ± 0.5	MR	7	R
8	nan, сорт Аврора, tub	3.8 ± 0.4	R	7	R
9	nan, mcd, tar, adg, сорт Desirée	4.9 ± 0.3	MR	7	R
10	nan, mcd, tar, adg, tub, сорт Omega	6.6 ± 0.7	MR	8	R
11	grr	5.0 ± 0.2	MR	9	R
12	grr, R5 (= dms, tub)	3.4 ± 0.2	R	9	R
13	grr, сорт Superb-1	4.0 ± 0.6	R	8	R
14	grr, сорт Superb-2	7.8 ± 0.8	MR	8	R
15	grr, сорт Superb, nan, mcd, tar, adg, tub	2.0 ± 0.4	R	7	R
16	grr, adg, phu	6.8 ± 0.9	MR	6	R
17	grr, сорт Superb, nan, mcd, tar, adg, 2 tub	6.0 ± 0.4	MR	7	R
18	mcd, tar	3.1 ± 0.3	R	6	R
19	phu, mcd, tar	7.9 ± 0.8	MR	5	MR
20	mcd, tar, сорт Аврора	11.5 ± 1.1	S	5	MR
21	mcd, tar, сорт Vanessa	4.2 ± 0.3	MR	7	R

Примечания: * – аббревиатура видов картофеля: adg = *Solanum tuberosum* Group Andigena, dms = *Solanum demissum*, grr = *Solanum guerreroense*, ktz = *Solanum kurtzianum*, mcd = *Solanum microdontum*, nan = *Solanum neoantipoviczii*, par = *Solanum parodii*, phu = *Solanum tuberosum* Group Phureja; spg = *Solanum spagazzinii*, tar = *Solanum tarijense*; tub = *Solanum tuberosum*; ** – R = устойчивый, MR = умеренно устойчивый, S = чувствительный.

гибрид nan с двумя образцами *S. tuberosum* (№ 8) и сложный гибрид № 15, несущий гены шести представителей рода *Solanum* L.. Площадь поражения листовых дисков этих образцов в среднем не превышала 4%. Наиболее чувствительными к инфекции оказались 3 гибрида: *S. neoantipoviczii* × *S. phureja*, а также сложные гибриды № 6 и № 20. Площадь поражения листовых дисков этих образцов в среднем превышала 9%. Остальные образцы показали промежуточные результаты.

После инокуляции оомицетом *P. infestans* на листовых долях всех образцов картофеля, включенных в

исследование, развивались симптомы поражения, интенсивность которых варьировала от 3 до 9 баллов (табл. 1). Устойчивость к патогену выявлена у 17 фенотипов с баллами оценки поражения выше 6. Растения двух образцов *S. kurtzianum* к-ВИР 12488 и *S. parodii* к-ВИР 8280 оказались восприимчивыми к *P. infestans*, балл поражения при их инокуляции составил 4 и 3, соответственно. Растения гибридов (№ 19 и № 20), полученных от скрещиваний mcd × tar с *S. phureja* (phu) и с сортом Аврора, характеризовались как умеренно устойчивые.

Обсуждение

Современные требования к новым сортам сельскохозяйственных культур предполагают их устойчивость к более, чем одному патогену. Для поиска образцов, несущих групповую устойчивость к альтернариозу и фитофторозу, нами выбраны оригинальные межвидовые гибриды рода *Solanum*. Многие виды картофеля широко используются при создании гибридов с устойчивостью к болезням (Culley et al., 2002, Song et al., 2003, Jakuczun, Wasilewicz-Flis, 2004; Jansky, 2006, Odilbekov et al., 2014, Meier et al., 2015). Результаты отбора потенциальных доноров устойчивости существенно зависят от эффективности применяемого метода скрининга и от патогенных свойств инфекционного материала. Наиболее надежным методом является лабораторная оценка устойчивости, обеспечивающая равномерное нанесение инокулята на листья растений. Недавно проведенными исследованиями

показано, что степень поражения, вызванная действием грибов *Alternaria* на растения диких видов *Solanum*, варьирует в зависимости от вида и штамма патогена (Wolters et al., 2019). Авторы наблюдали большие различия по степени поражения *S. microdontum* subsp. *gigantophyllum* (Bitter) Hawkes & Hjert. двумя разными изолятами *A. solani*. Среди представителей четырех проанализированных видов *Alternaria* штамм *A. protenta* вызывал наименьшую степень поражения картофеля, тогда как инокуляция штаммом *A. grandis* приводила к наибольшему развитию симптомов. В тестах заражения листьев образцов картофеля с использованием изолятов *P. infestans*, различающихся по признаку наличия гена вирулентности v.2, степень устойчивости одних и тех же семян существенно различалась (Zoteyeva, 2000).

Генетические источники частичной устойчивости к альтернариозу, которые можно использовать в селекционных программах, были выявлены среди диких видов картофеля *Solanum immite* Dunal, *Solanum polyadenium* Greenm. (Wolters et al., 2019) и *Solanum raphanifolium* Cardenas & Hawkes (Weber, Jansky, 2012). В проведенном нами многолетнем исследовании виды *S. immite* и *S. polyadenium* также проявляли высокую устойчивость к фитофторозу в полевых условиях (Зотеева, 2019). Очевидно, эти дикие виды картофеля перспективны для использования в селекции на групповую устойчивость к двум заболеваниям.

Известно, что устойчивость картофеля к альтернариозу связана со сроками созревания сорта, причем позднеспелые сорта имеют тенденцию к проявлению более высокого уровня устойчивости по сравнению с раннеспелыми (Douglas et al., 1972; Mendoza et al., 1986; Herriott et al., 1990; Pelletier, Fry 1990; Zhang, 2004; Dita-Rodríguez et al., 2006; Duarte et al., 2014). Известно, что сорта картофеля с продолжительным периодом вегетации устойчивее к возбудителю фитофтороза, чем созревающие в более ранние сроки (Visker, 2005).

Сравнение устойчивости к альтернариозу ранних и поздних сортов затруднительно, поскольку это заболевание чаще всего проявляется во время старения тканей хозяина, и некоторые сорта могут казаться резистентными из-за позднего созревания (Herriott et al., 1990). Исследование генетики картофеля с частичной устойчивостью к альтернариозу выявило близкое расположение локусов количественных признаков устойчивости к альтернариозу и зрелости листьев (Zhang, 2004), однако автор посчитал полученный результат недостаточным для утверждения плейотропного эффекта или тесного сцепления генов, детерминирующих эти признаки, поскольку некоторые клоны картофеля как раннего, так и среднего созревания показывали высокий уровень устойчивости к альтернариозу.

Среди различных направлений селекции картофеля устойчивость к фитофторозу особенно актуальна, поскольку вредоносность патогена не снижается из года в

год. Патоген поражает листья, стебли и клубни, причем уровни устойчивости разных органов растения-хозяина не всегда коррелируют между собой (Stewart et al., 1994; Gao, Bradeen, 2016). Например, растения аргентинского вида *S. spegazzinii* в своей массе чувствительны к *P. infestans* (Зотеева, 2019), однако, некоторые образцы этого вида характеризуются устойчивостью клубней (Zoteyeva, 2006). В данном изучении сеянцы из расщепляющейся популяции образца ВИР к-11974 проявил устойчивость к *P. infestans* и слабо поражен *A. solani*. Образец *S. parodii* к-ВИР 8280, в популяциях которого встречаются растения с устойчивостью клубней к *P. infestans* (Zoteyeva et al., 2012), охарактеризован как умеренно устойчивый к *A. solani*. Среди исследованного материала высокой устойчивостью к фитофторозу отличаются растения *S. guerreroense* (Zoteyeva et al., 2012). Этот дикий вид картофеля – близкий родственник *S. demissum*, который также характеризуется высокой устойчивостью к фитофторозу. Данные многолетних полевых наблюдений указывают на чувствительность большей части образцов *S. demissum* к альтернариозу (Зотеева, неопубликованные данные). В данном изучении у сеянца (№ 12) из расщепляющейся популяции гибрида с участием обоих этих видов выявлена устойчивость к обоим патогенам. Слабая степень поражения грибом *A. solani* листовых дисков была выявлена у одного из двух сеянцев гибрида *S. guerreroense* × Superb, также незначительно поражен сложный многовидовой гибрид *S. guerreroense* № 15. При этом, слабые симптомы альтернариоза имели не все гибридные потомства *S. guerreroense*, в том числе гибрид № 16, для получения которого в скрещивании был использован образец *S. phureja*, проявляющий чувствительность к *A. solani* в полевых условиях (Зотеева, неопубликованные данные). Также относительно большую площадь некроза, вызываемого *A. solani*, наблюдали на дисках листьев фитофтороустойчивого гибрида pan × *S. phureja*, в то время как гибрид №8, полученный от скрещивания pan с двумя генотипами *Solanum tuberosum*, проявлял устойчивость к альтернариозу.

Заключение

Результаты исследования показали высокую вариативность образцов диких видов картофеля различного происхождения по реакции на заражение грибом *A. solani*. Повышенная устойчивость к альтернариозу найдена у отдельных фенотипов южноамериканских видов *S. spegazzinii* и *S. parodii*. При этом сеянец *S. spegazzinii* был

также устойчив к фитофторозу. У потомств разных комбинаций скрещиваний с исследованными по устойчивости к *A. solani* образцами ggr, mcd × tar и pan, уровень устойчивости к патогену значительно различался. При этом среди исследованного растительного материала выявлены фенотипы, сочетающие устойчивость к обоим патогенам.

Благодарности

Изолят *P. infestans* был любезно предоставлен с.н.с. А.В. Хютти (лаборатория иммунитета растений к болезням ФГБНУ ВИЗР).

Предоставление и поддержание растительного материала для исследований, оценка устойчивости к фитофторозу и написание манускрипта выполнена в рамках государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме №0662-2019-0004_2019 «Скрининг генофонда основных сельскохозяйственных культур по устойчивости к болезням и вредителям с использованием современных лабораторных методов, изучение эффективности источников устойчивости к вредным организмам», номер государственной регистрации ЕГИСУ НИОКР АААА–А16–116040710361–8)

Оценка устойчивости образцов картофеля к альтернариозу выполнена по теме государственного задания № 0665-2019-0015.

Библиографический список (References)

- Зотеева НМ (2019) Устойчивость диких видов картофеля к фитофторозу в полевых условиях северо-запада РФ. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 180(4):159–169. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-4-159-169>
- Зотеева НМ, Антонова ОЮ, Клименко НС, Апаликова ОВ и др (2017) Использование молекулярных маркеров R генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля. *Сельскохозяйственная биология* 52:964–975. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus>
- Михайлова ЛА, Гоголева СГ, Гультьева ЕИ (2002) Взаимодействие штаммов *Bipolaris sorokiniana* и образцов пшеницы. *Микология и фитопатология* 36(2):63–66
- Орина АС, Ганибал ФБ, Мироненко НВ, Левитин ММ. (2014) Сравнительный анализ молекулярно-генетических и физиологических признаков *Alternaria solani* и *A. tomatophila*. *Микология и фитопатология* 48(1):51–60
- Abuley IK, Nielsen BJ (2017) Evaluation of models to control potato early blight (*Alternaria solani*) in Denmark. *Crop Prot* 102:118–128. <https://doi.org/10.1016/j.cpropro.2017.08.012>
- Ayad D, Aribi D, Hamon B, Abdelaziz K et al (2019) Distribution of large-spored *Alternaria* species associated with early blight of potato and tomato in Algeria. *Phytopathol Mediterr* 58:139–149. https://doi.org/10.13128/Phytopathol_Mediterr-23988
- Bethke PC, Halterman DA, Jansky S (2017) Are we getting better at using wild potato species in light of new tools? *Crop Sci* 57:1241–1258. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.10.0889>
- Black W, Mastenbroek C, Mills WR, Peterson LC (1953) A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2:173–179.
- Bradshaw JE, Ramsay G (2005) Utilisation of the commonwealth potato collection in potato breeding. *Euphytica* 146:9–19. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-3881-4>
- Chen S, Borza T, Byun, Coffin R et al (2017) DNA markers for selection of late blight resistant potato breeding lines. *Am J Plant Sci* 8:1197–1209. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.86079>
- Cohen Y (2002) Populations of *Phytophthora infestans* in Israel underwent three major genetic changes during 1983 to 2000. *Phytopathol* 92:300–307. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.3.300>
- Culley DE, Dean BB, Brown CR (2002) Introgression of the low browning trait from the wild Mexican species *Solanum hjertingii* into cultivated potato (*S. tuberosum* L.). *Euphytica* 125:293–303. <https://doi.org/10.1023/A:1016099923261>
- Dita-Rodríguez MA, Brommonschenkel SH, Matsuoka K, Mizubuti ESG (2006) Components of resistance to early blight in four potato cultivars: effect of leaf position. *J Phytopathol* 154:230–235. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2006.01089.x>
- Douglas DR, Pavek JJ (1972) Screening potatoes for field resistance to early blight. *Am J Potato Res* 49:1–6.
- Duarte HSS, Laércio Zambolim I, Rodrigues FA, Paul PA et al (2014) Field resistance of potato cultivars to foliar early blight and its relationship with foliage maturity and tuber skin types. *Trop Plant Pathol* 39(4):294–306. <http://dx.doi.org/10.1590/S1982-56762014000400004>
- Fry W (2008) *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Mol Plant Pathol* 9(3):385–402. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00465.x>
- Gannibal PB, Orina AS, Mironenko NV, Levitin MM (2014) Differentiation of the closely related species, *Alternaria solani* and *A. tomatophila*, by molecular and morphological features and aggressiveness. *Eur J Plant Pathol* 139(3):609–623. <http://dx.doi.org/10.1007/s10658-014-0417-6>
- Gao L, Bradeen JM (2016) Contrasting potato foliage and tuber defense mechanisms against the late blight pathogen *Phytophthora infestans*. *PLOS ONE* 11(7):e0159969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159969>
- Herriott AB, Haynes Jr FL, Shoemaker PB (1990) Inheritance of resistance to early blight disease in tetraploid x diploid crosses of potatoes. *Hortscience* 25:224–226
- Jakuczun H, Wasilewicz-Flis I (2004) New sources of potato resistance to *Phytophthora infestans* at diploid level. *Plant Breed Seed Sci* 50:137–145
- Jansky SH, Simon R, Spooner DM (2008) A test of taxonomic predictivity: resistance to early blight in wild relatives of cultivated potato. *Phytopathol* 98(6):680–687. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-6-0680>
- Leiminger JH, Hausladen H. (2012) Early blight control in potato using disease-orientated threshold values. *Plant Dis* 96(1):124–130. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-11-0431>
- Mallik I, Arabiat S, Pasche JS, Bolton MD et al (2014) Molecular characterization and detection of mutations associated with resistance to succinate dehydrogenase-inhibiting fungicides in *Alternaria solani*. *Phytopathol* 104:40–49. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-13-0041-R>
- Matson MEH, Small IM, Fry WE, Judelson HS (2015) Metalaxyl resistance in *Phytophthora infestans*: Assessing role of RPA190 gene and diversity within clonal lineages. *Phytopathol* 105:1594–1600. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0129-R>
- Meier A, Jansky S, Halterman D (2015) Germplasm release: three potato clones incorporating combined resistances to early blight from *S. alubra* and late blight from *S. bulbocastanum* into a *S. tuberosum* background. *Am J Potato Res* 92:410–416. <https://doi.org/10.1007/s12230-015-9451-y>
- Mendoza HA, Martin C, Vallejo RL, Espinoza J (1986) Breeding resistance to early blight (*Alternaria solani*). *Am Potato J* 63:444–445
- Odilbekov F, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E (2014) Phenotyping early blight resistance in potato cultivars and breeding clones. *Euphytica* 197(1):87–97. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1054-4>
- Pasche JS, Piche LM, Gudmestad NC (2005) Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration. *Plant Dis* 89:269–278. <https://doi.org/10.1094/PD-89-0269>
- Pelletier JR, Fry WE (1990) Characterization of resistance to early blight in three potato cultivars: receptivity. *Phytopathol* 80:511–517. <https://doi.org/10.1094/Phyto-80-361>
- Randall E, Young V, Sierotzki H, Scalliet G et al (2014) Sequence diversity in the large subunit of RNA polymerase I contributes to mefenoxam insensitivity in *Phytophthora infestans*. *Mol Plant Pathol* 15:664–676. <https://doi.org/10.1111/mpp.12124>
- Rodrigues T, Berbee M, Simmons E, Carine CRC et al (2010) First report of *Alternaria tomatophila* and *A. grandis* causing early blight on tomato and potato in Brazil. *New Dis Rep* 22:28. <https://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2010.022.028>
- Shtienberg D, Fry WE (1990) Influence of host resistance and crop rotation on initial appearance of potato early blight. *Plant Dis* 74:849–852. <https://doi.org/10.1094/pd-74-0849>
- Song J, Bradeen JM, Naess SK, Raasch JA et al (2003) Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. *PNAS USA* 100(16):9128–9133
- Stewart HE, Bradshaw JE, Wastie RL (1994) Correlation between resistance to late blight in foliage and tubers in potato clones from parents of contrasting resistance. *Potato Res* 37(4):429–434. <https://doi.org/10.1023/B:EUPH.0000040451.21852.d8>
- Thomma BPHJ (2003) *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Mol Plant Pathol* 4(4):225–236. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2003.00173.x>
- Tymon LS, Cummings TF, Johnson DA (2016) Pathogenicity and aggressiveness of three *Alternaria* spp. on potato foliage in the US northwest. *Plant Dis* 100(4):797–801. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-15-0942-RE>

- Visker MHPW (2005) Association between late blight resistance and foliage maturity type in potato. Physiological and genetic studies. *PhD Thesis*. Wageningen. 160 p.
- Weber BN, Jansky SH (2012) Resistance to *Alternaria solani* in hybrids between a *Solanum tuberosum* haploid and *S. raphanifolium*. *Phytopathol* 102(2):214–221. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-05-11-0146>
- Weiya X, Haynes KG, Qu X (2019) Characterization of early blight resistance in potato cultivars. *Plant Dis* 103(4):629–637. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-18-0794-RE>
- Wolters PJ, de Vos L, Bijsterbosch G, Woudenberg JHC (2019) A rapid method to screen wild *Solanum* for resistance to early blight. *Eur J Plant Pathol* 154:109–114. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01741-y>
- Yang L, He M, Ouyang H, Zhu W et al (2019) Cross-resistance of the pathogenic fungus *Alternaria alternata* to fungicides with different modes of action. *BMC Microbiol* 19:205. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1574-8>
- Zarzycka H (2001) Evaluation of resistance to *Phytophthora infestans* in detached leaflet assay. *Monografie i Rozprawy Naukowe* 10b:75–77
- Zhang R (2004) Genetic characterization and mapping of partial resistance to early blight in diploid potato. *PhD Thesis*. Pennsylvania. 158 p.
- Zheng H, Zhao J, Wang T, Wu X (2014) Characterization of *Alternaria* species associated with potato foliar diseases in China. *Plant Pathol* 64:425–433. <https://doi.org/10.1111/ppa.12274>
- Zoteyeva NM (2000) Utilization of wild species in potato breeding for resistance to *Phytophthora infestans*. In: Khurana SM (ed) Potato global research and development. Shimla: Indian Potato Association. 556–560.
- Zoteyeva NM (2006) Frequency of genotypes with tuber resistance to *Phytophthora infestans* in wild potato species. Proc. 9th Workshop Eur. Network Dev. Integrated Control Strategy Potato Late Blight. 281–290.
- Zoteyeva NM, Chrzanowska M, Flis B, Zimnoch-Guzowska E (2012) Resistance to pathogens of the potato accessions from the collection of N. I. Vavilov Institute of Plant Industry (VIR). *Am J Potato Res* 89:277–293. <https://doi.org/10.1007/s12230-012-9252-5>

Translation of Russian References

- Mihaylova LA, Gogoleva SG, Gulyaeva EI (2002) [The interactions of *Bipolaris sorokiniana* strains and wheat samples] *Mikologiya i Fitopatologiya* 36(2):63–66 (in Russian)
- Orina AS, Gannibal PhB, Mironenko NV, Levitin MM (2014) [Comparative analysis of molecular genetics and physiological features of *Alternaria solani* and *A. tomatophila*] *Mikologiya i Fitopatologiya* 48(1):51–60 (in Russian)
- Zoteyeva HM, Antonova OYu, Klimenko NS, Apalikova OV et al (2017) [Use of the DNA markers of *R* genes and different cytoplasmic types for the introgressive hybridization of the wild polyploid Mexican potato species] *Agricultural Biology* 52:964–975 (in Russian) <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2017.5.964rus>
- Zoteyeva NM (2019) [Late blight resistance of wild potato species under the field conditions in the North-West of Russia] *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i seleksii*. 180(4):159–169 (in Russian) <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-4-159-169>

Plant Protection News, 2020, 103(2), p. 99–104

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13347>

Full-text article

RESISTANCE OF WILD *SOLANUM* SPECIES AND HYBRIDS TO EARLY AND LATE BLIGHT

N.M. Zoteyeva¹, V.V. Vasipov¹, A.S. Orina^{2*}

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

²All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

*corresponding author, e-mail: orina-alex@yandex.ru

Early and late blight are the most harmful diseases of the potato causing significant economic losses in many regions where this crop is cultivated. The search for donors with complex resistance to these diseases is a priority for potato breeding. Twenty-one accessions of wild *Solanum* species and interspecific hybrids with various pedigrees were studied. The reaction of plants to the infection caused by *Alternaria solani* and *Phytophthora infestans* was assessed separately in the laboratory test using the inoculation of leaf disks and leaf fractions of the potato accessions with a suspension of pathogen conidia and zoospores, respectively. All studied potato accessions showed the symptoms of early and late blight after the inoculation, but significantly varied in sensitivity to the pathogens. Inoculation caused by *A. solani* led to the development of necrosis of the analyzed potato accessions, covering from 1.2% to 11.5% of leaf disk area. After the inoculation with *P. infestans* the intensity of the symptom development on the leaf fractions of all analyzed potato accessions varied from 3 to 9 points on a 9-point scale. Six potato phenotypes represented by one *Solanum* species and 5 interspecific hybrids with complex resistance to early and late blight were identified.

Keywords: *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Solanum* spp., inoculation, interspecific hybrids

Received: 16.03.2020

Accepted: 14.05.2020

УСТОЙЧИВОСТЬ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ОБРАЗЦОВ ЯРОВОЙ ТВЕРДОЙ ПШЕНИЦЫ К ЛИСТОСТЕБЕЛЬНЫМ БОЛЕЗНЯМ

А.С. Рсалиев^{1*}, Е.И. Гульятыева², П.Н. Мальчиков³, Е.Л. Шайдаюк²,
Н.М. Коваленко², Д.Р. Яковлева², М.Ж. Байгутов¹

¹Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности,
Гвардейский, Кордайский район, Жамбылская область, Казахстан

²Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

³Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова,
пгт. Безенчук, Безенчукский район, Самарская область, Россия

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

Листостебельные болезни (ржавчина и пятнистости) вредоносны для яровой твердой пшеницы во всех зонах ее выращивания. Целью исследований являлась иммунологическая оценка 25 перспективных сортов и линий яровой твердой пшеницы к листостебельным болезням в фазе проростков и взрослых растений и идентификация у них генов устойчивости. Изучаемый материал получен из Казахстанско-Сибирской сети улучшения яровой пшеницы (КАСИБ) в 2019 г. Оценку устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчинам проводили на инфекционном участке НИИ проблем биологической безопасности (Южный Казахстан), к пиренофорозу – на экспериментальном участке Самарского НИИСХ им. Тулайкова. В фазе проростков изучили устойчивость к географически отдаленным популяциям возбудителей бурой, стеблевой и желтой ржавчины и пиренофороза. Молекулярные маркеры использовали для идентификации генов *Lr*, *Sr*, *Yr* и доминантной аллели гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1*. В полевых условиях реакцией устойчивости к пиренофорозу и ржавчинам характеризовались линии 1693д-71, 2021д-1, Гордеиформе 1591-21 (Самарский НИИСХ), Д-2165 (НИИСХ ЮВ), Гордеиформе 08-107-5 (СибНИИСХ); к трем видам ржавчины – линия №9 (Карабалыкская СХОС), к двум видам (бурой и стеблевой) – линия Гордеиформе 08-67-1 (СибНИИСХ). У линий Гордеиформе 1591-21, Гордеиформе 08-107-5 и Гордеиформе 08-67-1 устойчивость к болезням в фазе взрослых растений коррелировала с устойчивостью в фазе проростков. Число резистентных к болезням образцов твердой пшеницы в российском материале было выше, чем в казахстанском. С использованием молекулярных маркеров у сортов твердой пшеницы не выявлены гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19/Sr25*, *Lr20/Sr15*, *Lr21*, *Lr24/Sr24*, *Lr25/Pm7*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Lr37/Sr38/Yr17/Pch2/Cre5*, *Lr41*, *Lr47* и *Sr35*. Доминантная аллель гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1* идентифицирована у сортов Союна и Гордеиформе 08-25-2. Образцы твердой пшеницы с групповой устойчивостью к листостебельным болезням могут быть рекомендованы для использования в селекции.

Ключевые слова: *Triticum durum*, бурая ржавчина, стеблевая ржавчина, желтая ржавчина, пиренофороз, *Lr*-гены, *Sr*-гены, *Yr*-гены

Поступила в редакцию: 12.03.2020

Принята к печати: 20.04.2020

Введение

Твердая пшеница (*Triticum durum* Desf) – значимая зерновая культура во многих странах. Посевные площади ее достигают 17 млн. га (Zaim, 2017; Kabbaj, 2017), что составляет 10% от общего объема посевных площадей пшеницы. Казахстан располагает специальными природными зонами для производства твердой пшеницы, обеспечивающими получение зерна отличного качества, отвечающего высокому уровню мировых стандартов. Однако в последние годы в Казахстане значительная часть продовольствия в большом ассортименте импортируется из стран дальнего и ближнего зарубежья, в том числе и макаронные изделия. На твердую пшеницу приходится 8–9% посевных площадей этой культуры, а производство зерна твердых сортов пока не растет. Причиной этому является невысокая урожайность (Аширбаева, 2017). Из-за нехватки высококачественного зерна твердой пшеницы в Казахстане около 80% макаронных изделий получают из сортов мягкой пшеницы (Рсалиев, 2009).

В Российской Федерации твердая пшеница возделывается в Поволжье, Зауралье, Западной Сибири и на

Северном Кавказе, и занимает 8–9% от общего количества посевных площадей, занятых в целом под пшеницей (Гончаров, Курашов, 2018). Наиболее распространена яровая твердая пшеница. До второй мировой войны из 165 млн. га посевов пшеницы в мировом земледелии на долю твердой пшеницы приходилось около 10%. В России в 1940-х гг. посевы *T. durum* превышали 4 млн. га. В послевоенные годы они начали расширяться и достигли максимума в 1966 г. – около 8 млн. га, или 11.4% площадей посева пшеницы в стране. Внедрение продуктивных сортов мягкой пшеницы привело к резкому сокращению посевов яровой твердой как менее урожайной. Это вызвало значительное снижение производства зерна твердой пшеницы, а перерабатывающая промышленность стала использовать зерно мягкой пшеницы, изделия из которой не отличались высоким качеством (Щипак и др., 2012).

Производство твердой пшеницы зачастую лимитировано развитием заболеваний. Листостебельные болезни, к которым относятся бурая (возбудитель *Puccinia triticina* Erikss.), стеблевая (*P. graminis* f.sp. *tritici* Eriks. et

Henn.) и желтая ржавчина (*P. striiformis* West.), септориоз (*Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvl. = *Septoria nodorum*) и пиренофороз (синоним желтая пятнистость) *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler., встречаются на яровой твердой пшенице во многих зонах ее выращивания в России и Казахстане (Kohmetova et al., 2017; Gulyaeva et al., 2020).

Создание устойчивых к грибным заболеваниям сортов пшеницы – наиболее эффективный способ защиты урожая. В целях повышения результативности селекционных программ в России и Казахстане создана Казахстанско-Сибирская сеть улучшения яровой пшеницы (КАСИБ), которая объединила ведущие селекционные и научно-исследовательские учреждения обеих стран. Одна из задач данной программы – расширение генотипического разнообразия и ускорение селекционного процесса, в том числе и по устойчивости к болезням. В селекционных

учреждениях проводятся экологические испытания изучаемого материала на естественных инфекционных фонах. В научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности (НИИПББ) и Всероссийском НИИ защиты растений (ВИЗР) – участниках программы КАСИБ, исследуемый материал изучается в полевых условиях на искусственных инфекционных фонах болезней и при инокуляции проростков в лабораторных условиях. Наряду с фитопатологическими исследованиями в этих учреждениях проводится молекулярная идентификация генов устойчивости к болезням, что позволяет дать комплексную характеристику нового материала.

Цель исследований – иммунологическая оценка перспективных сортов и линий яровой твердой пшеницы КАСИБ-2019 к листостебельным болезням в фазе проростков и взрослых растений и идентификация у них генов устойчивости.

Материалы и методы

Материал исследований включал 25 образцов яровой твердой пшеницы российской и казахстанской селекции, которые были получены из КАСИБ в 2019 году. Список изучаемого материала представлен в таблице.

Устойчивость в фазе взрослых растений изучали на инфекционном участке НИИПББ (Жамбылская область, пгт. Гвардейский) в 2019 г. в условиях искусственного инфекционного фона. Полевые опыты заложены на орошаемом участке. Почва – серозем аллювиального происхождения, удобренный перегноем. Полевой участок после отвальной вспашки и боронования обрабатывали культиватором SOLO 503. Семена пшеницы сеяли вручную на делянках площадью 0.4 м² с междурядьями 20 см и длиной рядка 100 см, повторность двукратная. В каждый рядок высевали по 50–60 зерен. Для накопления и распространения инфекции в питомнике, между ярусами, сеяли восприимчивые сорта-спредеры, которыми служили Могоссо и Саратовская 29. В полевых экспериментах в качестве инокулюма использовали урединиоспоры сборной казахстанской популяции видов ржавчины из коллекции микроорганизмов НИИПББ. Инокулюм содержал смесь изолятов патогенов, собранных с коммерческих сортов пшеницы в различных регионах Казахстана в 2017–2018 гг. В фазах кушения и трубкования, образцы яровой пшеницы инокулировали водной суспензией спор видов ржавчины с добавлением детергента Твин 80 (Sigma-Aldrich Corp.). После инокуляции делянки накрывали полиэтиленовой пленкой на 16–18 ч. Заражение растений проводили вечером в безветренную погоду после предварительного полива опытных посевов. Пораженность растений учитывали в период максимального развития заболеваний на восприимчивых контрольных сортах пшеницы. В качестве критериев оценки использовали показатели типа реакции (балл) и степень поражения растений (%). Тип инфекции пшеницы на инокуляцию видами ржавчины определяли по шкале Roelfs et al. (1992), где реакция «R» означает устойчивость (Resistant) (балл 0, 0₊, 1), «MR» – умеренная устойчивость (Moderate Resistant) (балл 2), «MS» – умеренная восприимчивость (Moderate Susceptible) (баллы 2–3, X), «S» – восприимчивость (Susceptible) (балл 4). Степень поражения ржавчинными болезнями (в %) оценивали по шкале Peterson et al. (1948). Учет желтой ржавчины проводили в

фазу колошения растений на листьях всех ярусов; листовой ржавчины – в фазу молочно-восковой спелости зерна на верхних двух листьях; стеблевой ржавчины – в фазу восковой спелости зерна на стеблях пшеницы.

Устойчивость образцов твердой пшеницы к *P. tritici-repentis* оценивали на экспериментальном участке Самарского НИИСХ на естественном инфекционном фоне в 2019 г. Для оценки степени поражения использовали шкалу Саари и Прескотт (1975).

В лабораторных условиях в фазе проростков изучили устойчивость твердой пшеницы к возбудителям пиренофороза, бурой, стеблевой и желтой ржавчины. Инфекционный материал *P. triticina* и *P. graminis* был размножен с использованием методики лабораторного культивирования патогенов (Михайлова и др., 1998) и на 8–10 дневных растениях пшеницы, выращенных в сосудах с почвой (Gulyaeva et al., 2020). Для заражения возбудителем желтой ржавчины использовали 12–14 дневные растения. Культуры *P. tritici-repentis* были получены по методике Л.А. Михайловой с соавторами (2012).

Две краснодарских субпопуляции *P. triticina* (с мягкой и твердой пшеницы) были использованы в лабораторных исследованиях. Они различались между собой по вирулентности к линиям Thatcher (TcLr) с генами *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr15* и *Lr17*. Субпопуляция с *T. aestivum* была вирулентна к этим линиям, с *T. durum* – авирулентна. Для заражения стеблевой ржавчиной использованием западно-сибирскую популяцию *P. graminis*, которая характеризовалась авирулентностью к линиям с генами *Sr9g*, *Sr9d*, *Sr17*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr24+31*, *Sr24+36*, *Sr30* и *Sr31*. Устойчивость к желтой ржавчине определяли с использованием сборной популяций патогена, полученной с образцов мягкой пшеницы в Краснодарском крае, Новосибирской и Ленинградской областях, и ленинградскую популяцию, собранную на опытном поле ВНИИ генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) с линий твердой пшеницы. Популяция *P. striiformis* с мягкой пшеницы была авирулентна к линиям Avocet с генами *Yr5*, *Yr10*, *Yr15*, *Yr24*, *Yr26* и сортам-дифференциаторам Мого и Nord Desprez, а популяция с твердой пшеницы дополнительно к линиям *Yr11*, *Yr12* и *Yr17*. Для инокуляции возбудителем пиренофороза использовали смесь изолятов, выделенных из

казахстанских образцов популяций. Используемый инокулюм *P. tritici-repentis* включал расы патогена – 1, 2, 3 и 7. Раса 1 продуцирует экзотоксины *PtrToxA* и *PtrToxC*, раса 2 – *PtrToxA*, раса 7 – *PtrToxA*, *PtrToxB*, раса 3 – *PtrToxC*. Расы с экзотоксином *PtrToxA* индуцируют некроз, с остальными – хлороз. Концентрация суспензии составляла 2–3*10³ конидиоспор/мл.

Лабораторные исследования устойчивости пшеницы к возбудителям пиренофороза, бурой и стеблевой ржавчины проводили в фазе первого листа; к возбудителю желтой ржавчины – в фазе второго листа. Изучаемые образцы опрыскивали водной суспензией спор каждого из патогенов с добавлением детергента Твин 80. Для создания влажной камеры контейнеры с растениями накрывали каркасом с полиэтиленом и выдерживали в темноте в течение 12 ч. при температуре 20 °С – для *P. tritici*, *P. graminis*, *P. tritici-repentis*, и при температуре 10 °С – для *P. striiformis*. Далее растения помещали в климатическую камеру Versatile Environmental Test Chamber MLR-352H («SANYO Electric Co., ltd.», Япония) с контролируемыми условиями (*P. tritici*, *P. graminis*, *P. tritici-repentis*: температура 20 °С, влажность 70%, освещенность 10000 люкс, фотопериод 16 часов день/ 12 часов ночь; *P. striiformis*: 16 часов освещенность 10000 люкс, температура 16 °С, влажность 70%, 8 часов без освещения, температура 10 °С, влажность 75%).

Учет типа реакции на инокуляцию возбудителями бурой и стеблевой ржавчины проводили через 8–10 дней с помощью шкал Mains, Jackson (1926) и Stakman et al. (1962), соответственно, где балл 0 – отсутствие симптомов; балл 0; – некрозы без пустул; балл 1 – очень мелкие пустулы, окруженные некрозом (R); балл 2 – пустулы среднего размера, окруженные некрозом или хлорозом (MR); балл 3 – пустулы среднего размера без некроза (MS), балл 4 – крупные пустулы без некроза (S), балл X – пустулы на одном и том же листе разных типов, присутствуют хлорозы и некрозы (MS). Растения с баллами 0, 1, 2 относили к устойчивым, 3, 4, X – к восприимчивым. Устойчивость к возбудителю желтой ржавчины оценивали на 18–20 день после заражения по шкале McNeal с соавторами (1971), где балл 0 – отсутствие симптомов; балл 1 – некротические следы; балл 2 – некротические пятна без урединиопустул; баллы 3–4 – слабо спорующие урединиопустулы,

окруженные некрозами и хлорозами; баллы 5–6 – умеренно спорующие урединиопустулы с зоной хлороза и некроза; баллы 7–8 – спорующие урединиопустулы с хлорозом; балл 9 – обильно спорующие пустулы без хлороза. Растения с баллами 0–6 относили к устойчивым, с баллами 7–9 – к восприимчивым. Реакцию к пиренофорозу определяли на 7 день после инокуляции по 5-балльной шкале, характеризующей величину некротических пятен и хлорозов (Lamari, Bernier, 1989; Михайлова и др., 2012). Растения с баллами 1/0, 1/1 относили к устойчивым, 1/ 2, 2/1, 2/2 – средне-устойчивым, 2/3, 2/4 – средне-восприимчивым, 3/2, 3/3, 3/4 – восприимчивым, 4/3, 4/4, 4/5, 5/4, 5/5 – сильно-восприимчивым (над чертой – балл развития некроза, под чертой – балл развития хлороза).

С использованием молекулярных маркеров идентифицировали следующие гены: *Lr1* (маркер WR003) (Qiu et al., 2007), *Lr3* (Xmwg798) (Kunzelet et al., 2000), *Lr9* (SCS5) (Gupta, et al., 2005), *Lr10* (Fi.2245/Lr10-6/r2) (Chelkowski et al., 2003), *Lr19/Sr25* (SCS265) (Gupta et al., 2006), *Lr20/Sr15* (STS638) (Neu et al., 2002), *Lr21(Lr21L/R)* (<https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr21/index.htm>), *Lr24/Sr24* (Sr24#12, Sr24#50) (Mago et al., 2005), *Lr25/Pm7* (Lr25F20/R19) (<https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr25/index.htm>), 1BL.1RS (*Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*)/1AL.1RS (SCM9) (Weng et al., 2007), *Lr28* (SCS421) (Cherukuri et al., 2005), *Lr29* (Lr29F24) (Procurier et al., 1995), *Lr34/Sr57* (csLV34) (Lagudah et al., 2006), *Lr35/Sr39* (Sr39=22) (<https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Lr35/index.htm>), *Lr37/Sr38/Yr17/Pch2/Cre5* (Ventriup/LN2) (Helguera et al., 2003), *Lr41* (GDM35) (Pestsova et al., 2000), *Lr47* (Helguera et al., 2000), *Sr35* (<https://maswheat.ucdavis.edu/protocols/Sr35/index.htm>). Доминантную аллель гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1* определяли с помощью маркера *Xfcp623*. Продукт амплификации размером 380 п.о. свидетельствовал о наличии у изучаемых образцов пшеницы доминантной аллели гена *Tsn1*, а отсутствие продукта – рецессивной аллели *tsn1* (Faris et al., 2010). ДНК выделяли из листьев 10-дневных проростков пшеницы по методике Дорохова и Клоке (1996). Амплификацию ДНК проводили в реакционной смеси по предложенным в литературе протоколам. Визуализация продуктов амплификации выполнена с использованием электрофореза в 1.5% агарозном геле.

Результаты

Изучение устойчивости в полевых условиях

В полевых условиях Южного Казахстана высокую устойчивость к бурой ржавчине (пораженность 0%) показали линии твердой пшеницы 69-08-2, Гордеиформе 1790, Гордеиформе 08-67-1, Гордеиформе 08-107-5 и Гордеиформе 1591-21. Пораженность до 10% имели сорта Костанайская 15, Гордея, Целинная, линия 1693д-71, а пораженность до 20% – сорта Сояна, Меляна и линии Д-2165, №9, Гордеиформе 895, Гордеиформе 910, Гордеиформе 08-25-2. В целом устойчивостью к бурой ржавчине в полевых условиях характеризовались 64% сортов и линий (табл.). Максимальное поражение наблюдали на сорте Сеймур 17 (60%).

Изученные образцы твердой пшеницы были более восприимчивы к стеблевой ржавчине. 32% сортов и линий характеризовались разной степенью устойчивости. У линии

Гордеиформе 08-107-5 не выявлено симптомов болезни (табл.). Линии 250-06-14 и Гордеиформе 08-67-1 имели поражение до 5%; линии 1693д-71, 2021д-1, Д-2165, Гордеиформе 924 – до 10%; линии №9, Гордеиформе 1591-21 – до 20%. Наибольшее поражение стеблевой ржавчиной отмечено у сорта Костанайская 15 (80%).

Число образцов, устойчивых к бурой и стеблевой ржавчине, в российском материале было выше, по сравнению с казахстанским.

Пораженность изучаемого материала желтой ржавчиной варьировала от 0% (линия 2021д-1) до 40% (Янтарная 60, Безенчукская 139, Гордея). Умеренной устойчивостью характеризовался сорт Целинная (пораженность до 5%). Образцы твердой пшеницы Р-1409, Сеймур 17, Костанайская 15, Меляна, Гордеиформе 1790, Гордеиформе 910, Гордеиформе 895, Гордеиформе 08-25-2, Гордеиформе

Таблица. Устойчивость образцов яровой твердой пшеницы к листовостебельным болезням в фазе проростков и взрослых растений

№	Образец	Оригинатор	Пораженность болезнями в полевых условиях (%) и тип реакции *				Устойчивость в фазе проростков (балл)					
			Южный Казахстан, 2019 г.			Самарская обл. пиренофороз	бурая ржавчина		стеблевая ржавчина	желтая ржавчина		пиренофороз
			бурая ржавчина	стеблевая ржавчина	желтая ржавчина		п_Та	п_Td		п_Та	п_Л_Td	
1.	Р-1409	Актюбинская СХОС	40MR ^a	40MR	10MR	30	0-1;	2	4	1-2	5	3/3
2.	Сояна	Актюбинская СХОС	20MR	40MR	20MR	40	1	3	3	0-1	5-6	4/4
3.	Янтарная 60	Актюбинская СХОС	50S	30MR	40MR-MS	25	1-2;	1-2	3	7	8	2/3
4.	Сеймур 17	КазНИИЗиР	60S	50S	10MR	40	1;	3	3	5-6	6	-
5.	Серке	КазНИИЗиР	30MR	30MR	20MR-MS	100	1-2;	3-	3-4	7	6-7	3/3
6.	Линия 69-08-2	НПЦЗХ им. А.И.Бараева	0	60S	30MS	80	1-2;	3	3-4	7	6-7	3/3
7.	Линия 250-06-14	НПЦЗХ им. А.И.Бараева	40MS	5R	20MR	20	0	3	0-1	7-8	7	3/3
8.	Костанайская 15	Карабалыкская СХОС	10MR	80S	10MR	20	0	1-2	4	7	7	2/2
9.	Гордеиформе 1790	Карабалыкская СХОС	0	60S	10MR	35	0;	2	3	1	5	2/2
10.	Линия №9	Карабалыкская СХОС	20MR	20MR	10R	50	0-1;	0-1	4	7-8	6-7	-
11.	Безенчукская 139	Межстанционный ст-т	50MS	50S	40MS	30	1-2	2 ⁺	3	1	6-7	-
12.	Гордеиформе 895	Алтайский НИИСХ	20MR	40MS	10MR	50	0-1;	0-1;	3	7	6-7	1,2/2
13.	Гордеиформе 910	Алтайский НИИСХ	20MR	60S	10MR	20	0-1	0-1;	-	5-6	5-6	1/1
14.	Гордеиформе 924	Алтайский НИИСХ	50MS	10MR	20MR	15	0-1;	0-1	3-4	0	7-8	3/3
15.	Гордеиформе 08-25-2	СибНИИСХ	20MR	30MR	10MR	80	0-1;	3	3-4	7	7	4/4
16.	Гордеиформе 08-67-1	СибНИИСХ	0	5R	30MR-MS	60	0-1;	1-2	1-2;	7	7	2/2
17.	Гордеиформе 08-107-5	СибНИИСХ	0	0	10MR	15	0-2	2 ⁺	1-2;	7	7	2/2
18.	Линия 1693д-71	Самарский НИИСХ	10R	10R	10MR	10	0-1;	1-2	3	7	7	3/4
19.	Линия 1970д-5	Самарский НИИСХ	30MR-MS	30MR	0	10	1-2	2 ⁺ -3	2-3	7-8	7	-
20.	Линия 2021д-1	Самарский НИИСХ	20MR	10R	10MR	10	2	3	3-4	7	6-7	3/3
21.	Гордеиформе 1591-21	Самарский НИИСХ	0	20MR	10MR	5	0-1;	1-2	0-1;	7	7-8	2/2
22.	Линия Д-2165	НИИСХ Юго-Востока	20MR	10R	10MR	5	1;	1-2	4	1-2	5-6	2/2
23.	Гордея	Оренбургский НИИСХ	10R	30MS	40MR-MS	80	1;	2;	4	7-8	7	3/3
24.	Целинная	Оренбургский НИИСХ	10R	30MR	5R	20	0-1;	2	4	7	7	3/3
25.	Меляна	Оренбургский НИИСХ	20MR	40MS	10R	25	1-2	1-2	4	0	7	3/3

Сокращения в шапке таблицы: п_Та – сборная краснодарская популяция *P. trititica* с мягкой пшеницы; п_Td – сборная краснодарская популяция *P. trititica* с твердой пшеницы; п_Та – сборная популяция *P. striiformis* с мягкой пшеницы, п_Л_Td – ленинградская популяция *P. striiformis* с твердой пшеницы.

-/- некроз/хлороз к *P. tritici-repentis*; - не анализировали.

* Тип реакции: R – устойчивый, MR – умеренно устойчивый, MS – умеренно восприимчивый, S – восприимчивый.

08-107-5, Гордеиформе 1591-21, линии №9, 1693д-71, 2021д-1, Д-2165 показали умеренную восприимчивость (пораженность до 10%).

В условиях Самарской области в 2019 г. высоким уровнем устойчивости к пиренофорозу (пораженность до 5%) характеризовались 2 линии: Д-2165 и Гордеиформе 1591-21. Линии 1693д-71, 1970д-5, 2021д-1, Гордеиформе 924, Гордеиформе 08-107-5 имели поражение от 10 до 15% и относились к группе умеренно устойчивых. К группе средневосприимчивых относились линии Р-1409, 250-06-14, Гордеиформе 910 и сорта Янтарная 60, Костанайская

15, Безенчукская 139, Целинная, Меляна. Развитие болезни на них варьировало от 20 до 30%. Максимальная пораженность (100%) отмечена на сорте Серке.

В результате полевой оценки выявлены образцы с групповой устойчивостью к трем видам ржавчины и пиренофорозу (линии 1693д-71, 2021д-1, Д-2165, Гордеиформе 08-107-5, Гордеиформе 1591-21) (табл.). Эта группа включала 20% образцов от общего числа изученных. Линия №9 характеризовалась устойчивостью к бурой, стеблевой и желтой ржавчине, а линия Гордеиформе 08-67-1 – к бурой и стеблевой ржавчине.

Лабораторные исследования устойчивости
в фазе проростков

Все образцы твердой пшеницы характеризовались устойчивой реакцией (балл 0, 1 2) при заражении краснодарской популяцией возбудителя бурой ржавчины, собранной с мягкой пшеницы (табл.). При инокуляции популяцией патогена с твердой пшеницы у 8 линий отмечена реакция восприимчивости. Таким образом, изоляты патогена с твердой пшеницы сильнее поражают сорта *T. durum*, чем изоляты с *T. aestivum*. Для большинства образцов устойчивость к бурой ржавчине в фазе проростков коррелировала с устойчивостью в полевых условиях, за исключением линий 69-08-2 и 2021д-1. У сортов Янтарная 60, Безенчукская 139 и линии Гордеиформе 924 наблюдали резистентность к болезни в фазе проростков и восприимчивость в фазе взрослых растений.

В фазе проростков, как и в полевых условиях, образцы твердой пшеницы сильнее поразились стеблевой ржавчиной. Устойчивую реакцию (баллы 0-1, 2) к западносибирской популяции *P. graminis* показали 16% изученных линий. К ним относились Гордеиформе 08-67-1, Гордеиформе 08-107-5, Гордеиформе 1591-21 и линия 250-06-14. Для линий 250-06-14, Гордеиформе 08-67-1, Гордеиформе 08-107-5 и Гордеиформе 1591-21 результаты изучения в фазе проростков коррелировали с полученными в полевых условиях. Это указывает на присутствие у этих линий высокоэффективных *Sr*-генов. Линии 250-06-14, 1693д-71, Д-2165, 2021д-1 и Гордеиформе 924, устойчивые в полевых условиях, были восприимчивы в фазе проростков, что предполагает возрастную устойчивость к стеблевой ржавчине у этих форм.

Устойчивость к популяциям возбудителя желтой ржавчины (с мягкой и твердой пшеницы) показали 24% образцов (линии Р-1409, Д-2165, Гордеиформе 1790, Гордеиформе 910, Сояна, Сеймур 17) (табл.). Сорт Меляна и линия Гордеиформе 924 были резистентными при заражении сборной популяцией *P. striiformis* с мягкой пшеницы, но показали восприимчивость к ленинградской популяции с твердой пшеницы. Аналогичные результаты получены в анализе с бурой ржавчиной. Это указывает на то, что инокулом патогена, собранный с твердой пшеницы, сильнее поражает образцы *T. durum*, чем инокулом с мягкой пшеницы. Это следует учитывать при проведении

иммунологических исследований. Устойчивость к желтой ржавчине в фазе проростков для линий № 9, Д-2165, Р-1409, Гордеиформе 910 и сорта Сеймур 17 коррелировала с результатами полевых исследований.

Реакцию устойчивости (баллы 0, 1, 2) к сборной казахстанской популяции пиренофороза показали сорта Янтарная 60, Костанайская 15 и линии Д-2165, Гордеиформе 1790, Гордеиформе 895, Гордеиформе 910, Гордеиформе 08-67-1, Гордеиформе 08-107-5, Гордеиформе 1591-21. Среди них сорта Янтарная 60, Костанайская 15 и линии 1693д-71, Д-2165, Гордеиформе 910, Гордеиформе 08-107-5, Гордеиформе 1591-21 были также устойчивы в полевых условиях Самарской области.

Идентификация генов устойчивости с использованием
молекулярных маркеров

С использованием молекулярных маркеров у изучаемых сортов твердой пшеницы не выявлены гены *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19/Sr25*, *Lr20/Sr15*, *Lr21*, *Lr24/Sr24*, *Lr25/Pm7*, *Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Lr37/Sr38/Yr17/Pch2/Cre5*, *Lr41*, *Lr47* и *Sr35*. Таким образом, *Lr* и *Sr* гены у устойчивых к ржавчинам образцов яровой твердой пшеницы отличаются от идентифицируемых.

С использованием маркера *Xfcp623* доминантная аллель гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1* выявлена у двух образцов твердой пшеницы Сояна и Гордеиформе 08-25-2 (рис.).

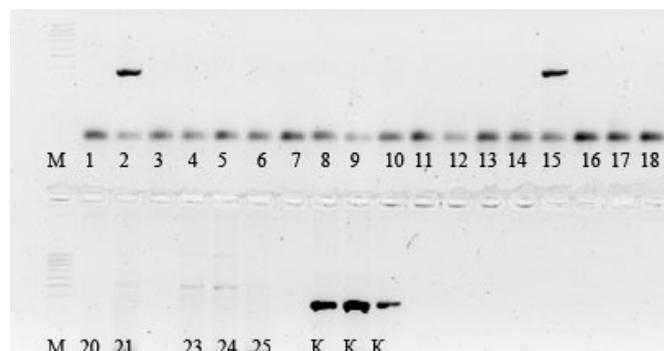


Рисунок. Электрофореграмма ПЦР с маркером *Xfcp623* доминантной аллели гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1*.

М – маркер молекулярной массы,
1–25 – номера проб согласно списку в таблице.
К – положительный контроль, сорт Glenlea

Обсуждение

В иммунологических исследованиях в фазе проростков и взрослых растений выделены образцы твердой пшеницы, устойчивые к отдельно взятой и к нескольким болезням (групповая устойчивость). Большинство изученных сортов и линий (64%) характеризовались реакцией резистентности к бурой ржавчине. Число образцов, устойчивых к стеблевой или желтой ржавчине было существенно ниже (16% и 12%, соответственно). Полученные сведения согласуются с утверждением, что *T. durum* более устойчив к бурой ржавчине, чем к стеблевой и желтой ржавчинам (Дорофеев и др., 1979).

Результаты молекулярного анализа в данной работе указывают на отсутствие у перспективного материала твердой пшеницы КАСИБ-2019 известных генов устойчивости к ржавчинам (*Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19/Sr25*, *Lr20/*

Sr15, *Lr21*, *Lr24/Sr24*, *Lr25/Pm7*, *Lr26/Sr31/Yr9*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34/Sr57*, *Lr35/Sr39*, *Lr37/Sr38/Yr17*, *Lr41*, *Lr47*, *Sr35*). Можно предположить, что устойчивые образцы *T. durum* могут быть защищены новыми генами, либо другими известными, для которых не подобрано молекулярных маркеров, что лимитирует проведение их идентификации.

Генетика устойчивости *T. durum* к болезням изучена хуже в сравнении с *T. aestivum* (Kolmer, 1996). От твердой пшеницы в мягкую пшеницу перенесены гены устойчивости к бурой (*Lr14a*, *Lr23*), стеблевой (*Sr12*) ржавчинам и мучнистой росе (*Mld* и *Pm3d*) (McIntosh et al., 1995). Предполагается, что ген *Lr23*, определенный у сорта мягкой пшеницы Gaza, имеет широкое распространение в сортах твердой пшеницы (McIntosh, Dyck 1975; Nelson et al., 1997). И.Г. Одинцова и соавторы (1982) определили,

что многие устойчивые образцы яровой твердой пшеницы из коллекции ВИР, имеющие широкое географическое происхождение, защищены геном *Lr23*. К сожалению, отсутствие молекулярного маркера для данного гена не позволило провести его идентификацию у материала КАСИБ. Наряду с геном *Lr23* у сортов *T. durum* зарубежной селекции выявлена широкая представленность генов *Lr1*, *Lr2*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr16*, *Lr17a*, *Lr27+Lr31*, *Lr46*, *Lr47*, *Lr52*, *Lr61*, *Lr64* и *Lr72* (Zhang, Knott 1990; Singh et al., 1993; Dyck, 1994; Dubcovsky et al., 1998; Aguilar-Rincon et al., 2001; Herrera-Foessel et al., 2007, 2008b, 2011, 2014; McIntosh et al., 2009; Singh et al., 2010). Результаты молекулярного анализа в данной работе указывают на отсутствие генов *Lr1*, *Lr3*, *Lr10*, *Lr47* у изученного материала КАСИБ-2019.

В данных исследованиях аллель гена восприимчивости к пиренофорозу *Tsn1* выявлена только у сортов Сояна и Гордеиформе 08-25-2. Эти образцы сильно поражались в фазе проростков при инокуляции казахстанской популяцией *P. tritici-repentis* (балл 4), т.е. взаимодействие в патосистеме «растение-хозяин» осуществлялось по типу гена-гена. В полевых условиях сорт Сояна характеризовался

средним поражением (40%), а линия Гордеиформе 08-25-2 – высоким (80%). Поражение в фазе проростков и взрослых растений остальных изучаемых сортов указывает на наличие у них других генов.

Наибольшую ценность для фитосанитарной стабилизации с болезнями в производственных условиях представляют сорта пшеницы с групповой устойчивостью. В данных исследованиях выделены линии яровой твердой пшеницы с устойчивостью к комплексу листостебельных болезней. В полевых условиях реакцией устойчивости к пиренофорозу и ржавчинам характеризовались линии 1693д-71, 2021д-1, Д-2165, Гордеиформе 08-107-5, Гордеиформе 1591-21. Линия №9 была устойчива к трем видам ржавчины, а линия Гордеиформе 08-67-1 – к двум (бурой и стеблевой). У линий Гордеиформе 1591-21, Гордеиформе 08-107-5 и Гордеиформе 08-67-1 устойчивость к болезням в фазе взрослых растений коррелировала с устойчивостью в фазе проростков. Образцы твердой пшеницы с эффективной групповой устойчивостью к ржавчинам и пиренофорозу могут быть рекомендованы для использования в селекционных программах в качестве доноров.

Заключение

Высокие темпы изменчивости патогена предопределяют необходимость поиска новых доноров устойчивости для селекции твердой пшеницы во всем мире. В результате проведенных исследований охарактеризована устойчивость коллекции твердой пшеницы КАСИБ-2019 к комплексу листостебельных болезней. Выделены образцы с групповой устойчивостью к ржавчинам и пиренофорозу.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках программы грантового финансирования на 2018–2020 гг. (грант № AP05132236) и Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках программно-целевого финансирования на 2018–2020 гг. (ИРН BR0649329).

Библиографический список (References)

- Аширбаева СА (2017) Селекция твердой пшеницы. *Аграрный журнал БОСС* 2(126):18–22. <https://bossagro.kz/wp-content/uploads/boss-agro-02-2017.pdf>
- Гончаров СВ, Курашов МЮ (2018) Перспективы развития российского рынка твердой пшеницы. *Вестник Воронежского государственного аграрного университета* 2(57):66–75. <http://www.doi.org/10.17238/issn2071-2243.2018.2.66>
- Дорофеев ВФ, Филатенко АА, Мигушова ЭФ, Удачин РА, Якубцинер ММ (1979) Культурная флора СССР. Т. 1. Пшеница. Л.: «Колос». 348с.
- Дорохов ДБ, Клоке Э (1997) Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. *Генетика* 33(4):443–450.
- Михайлова ЛА, Гулятьева ЕИ, Мироненко НВ (1998) Методы исследований структуры популяции возбудителя бурой ржавчины пшеницы. *Сборник методических рекомендаций по защите растений*. СПб.: ВИЗР. 105–126.
- Михайлова ЛА, Мироненко НВ, Коваленко НМ (2012) Желтая пятнистость пшеницы. *Методические указания по изучению популяций возбудителя желтой пятнистости *Puccinia tritici-repentis* и устойчивости сортов*. СПб.: ВИЗР. 56 с.
- Одинцова ИГ, Кривченко ВИ, Григорьева ОГ (1982) Устойчивые к бурой ржавчине образцы яровой пшеницы с предварительной генетической характеристикой. *Каталог мировой коллекции ВИР* 62:78 с.
- Рсалиев АС (2009) Устойчивость сортообразцов яровой твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf) к ржавчинным болезням. *Автореф. дисс. ... к.с.-х.н.* Алматы: Алмалыбақ. 26 с.
- Щипак ГВ, Недоступов РА, Щипак ВГ (2012) Селекция озимой твердой пшеницы на повышение адаптивного потенциала и урожайности. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 16(2):455–463.
- Aguilar-Rincon VH, Singh RP, Castillo-Gonzalezand F, Huerta-Espino J (2001) Genes of leaf rust resistance in a synthetic hexaploid wheat. *Rev Fitotec Mex* 24(2):161–169.
- Chelkowski J, Golka L, Stepień L (2003) Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. *J Appl Genet* 44(3):323–338.
- Cherukuri DP, Gupta SK, Charpe A, Koul S et al (2005) Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica* 143(1):19–26. <http://www.doi.org/10.1007/s10681-005-1680-6>
- Dubcovsky J, Lukaszewski AJ, Echaide M, Antonelli EF, Porter DR (1998) Molecular characterization of two *Triticum speltoides* interstitial translocations carrying leaf rust and greenbug resistance genes. *Crop Sci* 38(6):1655–1660. <http://www.doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800060040x>
- Dyck PL (1994) The transfer of leaf rust resistance from *Triticum turgidum* ssp. *dicoccoides* to hexaploid wheat. *Can J Plant Sci* 74(4):671–673. <https://doi.org/10.4141/cjps94-12>
- Faris JD, Zhang ZC, Lu HJ, Lu SW et al (2010) A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 107(30):13544–13549. <http://doi.org/10.1073/pnas.1004090107>
- Gulyaeva E, Yusov V, Rosova M, Malchikov P, Shayayuk E, Kovalenko N, Wanyera R, Morgounov A, Yskakova G, Rsaliyev A.

- (2020) Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens. *Cereal research communications*. 48:71–79. <https://doi.org/10.1007/s42976-019-00009-9>
- Gupta SK, Charpe A, Koul S, Prabhu KV, Haq QM (2005) Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat. *Genome* 48(5):823–830. <http://www.doi.org/10.1139/G05-051>
- Gupta SK, Charpe A, Prabhu KW, Haque OMR (2006) Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr19* in wheat. *Theor Appl Genet* 113(6):1027–1036. <http://www.doi.org/10.1007/s00122-006-0362-7>
- Helguera M, Khan I A, Dubcovsky J (2000) Development of PCR markers for wheat leaf rust resistance gene *Lr47*. *Theor Appl Genet* 100(7):1137–1143. <http://www.doi.org/10.1007/s001220051397>
- Helguera M, Khan IA, Kolmer J, Lijavetzky D et al (2003) PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Science* 43(5):1839–1847. <http://www.doi.org/10.2135/cropsci2003.1839>
- Herrera-Foessel S, Singh RP, Huerta-Espino J, William M et al (2007) Identification and mapping of *Lr3* and a linked leaf rust resistance gene in durum wheat. *Crop Science* 47(4):1459–1466. <http://www.doi.org/10.2135/cropsci2006.10.0663>
- Herrera-Foessel S, Singh RP, Huerta-Espino J, William M et al (2008) Molecular mapping of a leaf rust resistance gene on the short arm of chromosome 6B of durum wheat. *Plant Dis* 92(12):1650–1654. <http://www.doi.org/10.1094/PDIS-92-12-1650>
- Herrera-Foessel SA, Lagudah ES, Huerta-Espino J, Hayden M et al (2011) New slow rusting leaf rust and stripe rust resistance genes *Lr67* and *Yr46* are pleiotropic or closely linked. *Theor Appl Genet* 122(1):239–249. <http://www.doi.org/10.1007/s00122-010-1439-x>
- Herrera-Foessel SA, Huerta-Espino J, Calvo-Salazar V, Lan CX, Singh RP (2014) *Lr72* confers resistance to leaf rust in durum wheat cultivar Atil C2000. *Plant Dis* 98(5):631–635. <http://www.doi.org/10.1094/PDIS-07-13-0741-RE>
- Kolmer JA (1996) Genetics of resistance to wheat leaf rust. *Annu Rev Phytopathol* 34:435–455.
- Kokhmetova, A, Kremneva O, Volkova G, Atishova M, Sapakhova Z (2017) Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot. *J Plant Pathology*. 99(1):161–167. <http://www.doi.org/10.4454/jpp.v99i1.3812>
- Kunzel G, Korzun L, Meister A (2000) Cytologically integrated physical restriction fragment length polymorphism maps for the barley genome based on translocation breakpoints. *Genetics* 154(1): 397–412.
- Lagudah ES, McFadden H, Singh RP, Huerta-Espino J et al (2006) Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor Appl Genet* 114:21–30. <http://www.doi.org/10.1007/s00122-006-0406-z>
- Lamari L, Bernier CC (1989) Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot [*Perynophora tritici-repentis*] based on lesion type. *Can J Plant Sci* 11(1):49–56.
- Mago R, Bariana HS, Dundas IS (2005) Development of PCR markers for the selection of wheat stem rust resistance genes *Sr24* and *Sr26* in diverse wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 111: 496–504 <http://www.doi.org/10.1007/s00122-005-2039-z>
- Mains EB, Jackson HS (1926) Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss. 16:89–120.
- McIntosh RA, Dubcovsky J, Rogers WJ, Morris C et al (2009) Catalogue of gene symbols for wheat: 2009 supplement <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2009.pdf>
- McIntosh RA, Dyck PL (1975) Cytogenetical studies in wheat. VII Gene *Lr23* for reaction to *Puccinia recondita* in Gabo and related cultivars. *Aust J Sci* 28:201–211.
- McIntosh RA, Wellings CR, Park RF (1995) Wheat rusts. An atlas of resistance genes. CSIRO Australia, Kluwer Acad. Publ., Dordrecht, the Netherlands.
- McNeal FH, Konzak CF, Smith EP, Tate WS et al (1971) A uniform system for recording and processing cereal research data. *US Dept Agric Res Serv ARS* 34:121–43.
- Nelson JC, Singh RP, Autrique JE, Sorrells ME (1997) Mapping genes conferring and suppressing leaf rust resistance in wheat. *Crop Sci* 37(6):1928–1935. <http://www.doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700060043x>
- Neu C, Stein N, Keller B (2002) Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat. *Genome* 45(4):737–744 <http://www.doi.org/10.1139/g02-040>
- Pestsova E, Ganai MW, Röder MS (2000) Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome* 43(4):689–697. <https://doi.org/10.1139/g00-042>
- Peterson RF, Campbell AB, Hannah AE (1948) A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals. *Canad J Res* 26(5):496–500. <https://doi.org/10.1139/cjr48c-033>
- Procnier JD, Townley-Smith TF, Fox S, Prashar S et al (1995) PCR-based RAPD/DGGE markers linked to leaf rust resistance genes *Lr29* and *Lr25* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Genet Breed* 49:87–92.
- Saari EE, Prescott JM (1975) A scale for appraising the foliar intensity of wheat diseases. *Plant Dis Rep* 59:377–380
- Qiu JW, Schürch AC, Yahiaoui N, Dong LL et al (2007) Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat. *Theor Appl Genet* 115:159–168 <http://www.doi.org/10.1007/s00122-007-0551-z>
- Roelfs A., Singh R., Saari EE (1992) Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico. 1992. 45.
- Singh B, Bansal UK, Forrest KL, Hayden MJ, Hare RA, Bariana HS (2010) Inheritance and chromosome location of leaf rust resistance in durum wheat cultivar Wollaroi. *Euphytica* 175:351–355. <https://www.doi.org/10.1007/s10681-010-0179-y>
- Singh R, Bechere E, Abdalla O (1993) Genetic analysis of resistance to leaf rust in nine durum wheats. *Plant Dis* 77(5):460–463. <https://www.doi.org/10.1007/s11032-009-9268-9>
- Stakman EC, Stewart DM, Loegering WQ (1962) Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service* 617:53. <https://ufdc.ufl.edu/AA00024889/00001>
- Weng Y, Azhaguvel P, Devkota RN, Rudd JC (2007) PCR based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background. *Plant Breed*. 126(5):482–486. <http://www.doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x>
- Zaim M., Hassouni Kh El, Gamba F, Filali-Maltouf A et al (2017) Wide crosses of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) reveal good disease resistance, yield stability, and industrial quality across Mediterranean sites. *Field Crop Res* 214:219–227. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.09.007>
- Zhang H, Knott DR (1993) Inheritance of adult plant resistance to leaf rust in six durum wheat cultivars. *Crop Sci* 33(4):694–697. <http://www.doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300040010x>
- Stakman EC, Stewart DM, Loegering WQ (1962) Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service* 617:53. <https://ufdc.ufl.edu/AA00024889/00001>

Translation of Russian References

- Ashirbayeva SA (2017) [Selection of durum wheat]. *Agrarniy zhurnal BOSS* 2(126):18–22. <https://bossagro.kz/wp-content/uploads/boss-agro-02-2017.pdf> (in Russian)
- Dorofeyev VF, Filatenko AA, Migushova EF, Udachin RA, Yakubtsiner MM (1979) *Kulturnaya flora SSSR. Pshenitsa*

- [Cultural flora of the USSR. Wheat]. Leningrad: «Kolos». 348p. (in Russian)
- Dorohov DB, Kloke Eh (1997) [Rapid and economical technology of RAPD analysis of plant genomes]. *Genetika* 3(4):443–450 (in Russian)
- Goncharov SV, Kurashov MYu (2018) [Prospects for the development of the Russian durum wheat market]. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* 2(57):66–75 (in Russian) <http://www.doi.org/10.17238/issn2071-2243.2018.2.66>
- Mikhaylova LA, Gulyaeva EI, Mironenko NV (1998) *Metody issledovaniy struktury populyatsii vozбудitelya buroy rzhavchiny pshenitsy* [Methods for studying the structure of populations of the leaf rust causative agent]. *Sbornik metodicheskikh rekomendatsiy po zashchite rasteniy* [Guidelines for the protection of plants]. St. Petersburg: VIZR. 105–126 (in Russian) Mikhaylova LA, Mironenko NV, Kovalenko NM (2012) *Zheltya pyatnistost pshenitsy* [Yellow spot of wheat]. *Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu populyatsiy vozбудitelya zheltoy pyatnistosti Pyrenophora tritici-repentis i ustoychivosti sortov* [Guidelines for the study of yellow spotted pathogen populations *Pyrenophora tritici-repentis* and resistance of varieties]. St. Petersburg: VIZR. 56 p. (in Russian)
- Odintsova IG., Krivchenko VI., Grigoryev OG (1982) *Ustoychivyye k buroy rzhavchine obraztsy yarovoy pshenitsy s predvaritelnoy geneticheskoy kharakteristikoy* [Leaf rust resistant spring wheat specimens with preliminary genetic characterization] *Katalog mirovoy kolleksii VIR* [VIR World Collection Catalog]. 62:78 p. (in Russian)
- Shchipak GV, Nedostupov RA, Shchipak VG (2012) [Breeding durum winter wheat for improvement of adaptive potential and yield]. *Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii* 16(2):455–463.

Plant Protection News, 2020, 103(2), p. 105–112

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13334>

Full-text article

RESISTANCE OF PERSPECTIVE SPRING DURUM WHEAT ACCESSIONS TO FOLIAR DISEASES

A.S. Rsaliyev^{1*}, E.I. Gulyaeva², P.N. Malchikov³, E.L. Shaydayuk², N.M. Kovalenko²,
D.R. Yakovleva², M.Zh. Baygutov¹

¹The Research Institute for Biological Safety Problems, Gvardeiskiy, Kordaiskiy Rayon, Zhambylskaya Oblast, Kazakhstan

²All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

³Samara Research Institute of Agriculture, Samara, Russia

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

Foliar diseases (rust and spot) are harmful for durum wheat in all areas of its cultivation. The research aimed to evaluate 25 promising durum wheat varieties and lines for resistance to foliar and stem diseases at the seedling and adult plant stages, and to identify their resistance genes. The studied material was obtained from the Kazakhstan-Siberian Network on Spring Wheat Improvement (KASIB) in 2019. Resistance to leaf, stem, and yellow rusts was assessed at the infectious site of the Research Institute for Biological Safety Problems (South Kazakhstan). Resistance assessment to the causative agent of the tan spot was held at the experimental field of the Samara Research Institute of Agriculture named after Tulaykov. At the seedling stage, resistance to leaf, stem and yellow rusts and tan spot pathogen populations was evaluated. Molecular markers were used to identify the *Lr*, *Sr*, *Yr*- genes and the dominant allele of the *Tsn1* susceptibility gene to tan spot. The lines 1693d-71, 2021d-1, Hordeiforme 1591-21 (Samara Research Institute of Agriculture), D-2165 (Agricultural Research Institute for South-East Regions), Hordeiforme 08-107-5 (Siberian research institute of plant cultivation and breeding), were characterized by the resistance to rusts and tan spot in the field. Line №9 (Karabalyk agricultural experiment station) was resistant to three rust species, and line Hordeiforme 08-67-1 (Siberian research institute of plant cultivation and breeding) to leaf and stem rust. For Hordeiforme 1591-21, Hordeiforme 08-107-5 and Hordeiforme 08-67-1 lines, resistance to leaf and stem rusts and tan spot in the field experiment correlated with resistance in the seedling stage. The number of disease-resistant durum wheat accessions among Russian material was higher than in Kazakhstan. The following genes were not found in the studied durum wheat varieties using the molecular markers: *Lr1*, *Lr3*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr19* / *Sr25*, *Lr20* / *Sr15*, *Lr21*, *Lr24* / *Sr24*, *Lr25* / *Pm7*, *Lr26* / *Sr31* / *Yr9* / *Pm8*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34* / *Sr57*, *Lr35* / *Sr39*, *Lr37* / *Sr38* / *Yr17* / *Pch2* / *Cre5*, *Lr41*, *Lr47* and *Sr35*. The dominant allele of the *Tsn1* susceptibility gene to tan spot was detected in Soyana and Hordeiforme 08-25-2 durum wheat accessions. Resistant accessions of durum wheat can be recommended for the disease resistance breeding in Russia and Kazakhstan.

Keywords: *Triticum durum*, leaf rust, stem rust, yellow rust, tan spot, *Lr*-genes, *Sr*-genes, *Yr*-genes

Received: 12.03.2020

Accepted: 20.04.2020

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ У НОВЫХ ДОПУЩЕННЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ

О.А. Баранова

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: baranova_oa@mail.ru

В связи с увеличением вредоносности стеблевой ржавчины (возбудитель – *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) на территории Российской Федерации и угрозой распространения вирулентных рас гриба, в том числе расы Ug99, особое значение приобретает анализ разнообразия по генам устойчивости к патогену (*Sr* генам) российских, допущенных к использованию сортов пшеницы. В данной работе были оценены 32 новых сорта мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2017–2018 гг., по устойчивости к стеблевой ржавчине на стадии проростков и проведена идентификация *Sr* генов с использованием молекулярных маркеров. Для анализа устойчивости сортов была взята омская популяция возбудителя стеблевой ржавчины 2018 г., а также монопустульные изоляты PgtF1 и PgtZ1, выделенные из саратовской и ростовской популяций патогена. Фитопатологическую оценку проводили по стандартной лабораторной методике на интактных проростках. Анализ вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* был выполнен на наборе из 20 дифференциаторов (North American differential set) и 35 добавочных *Sr* линиях. Для идентификации генов устойчивости (*Sr2*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr57* и *Sr1A1R*) использовали специфичные праймеры. Выделены высокоустойчивые к стеблевой ржавчине сорта мягкой пшеницы с идентифицированными генами устойчивости: Астарта (*Sr31*), Веха (*Sr31*), Обская озимая (*Sr31*), Леонида (*Sr31*), Караван (*Sr31*), Алексеич (*Sr31*), Степь (*Sr31*), Безостая 100 (*Sr31+Sr57*), Жива (*Sr31+Sr57*), Ваня (*Sr31+Sr57*) и Велена (*Sr31+Sr28*). Сорта Велена, Жива, Ваня и Безостая 100 имеют сочетания гена *Sr31*, эффективного против российских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*, и генов *Sr28* и *Sr57*, эффективных против расы Ug99 и ее биотипов, что обуславливает перспективность этих сортов для возделывания в условиях эпифитотийного развития болезни.

Ключевые слова: пшеница, устойчивость, стеблевая ржавчина (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*), *Sr* гены, молекулярные маркеры

Поступила в редакцию: 10.03.2020

Принята к печати: 29.05.2020

Введение

Устойчивость к биотическим и абиотическим факторам – одно из важнейших требований, предъявляемых к современным сортам сельскохозяйственных растений, в том числе к пшенице. Устойчивый сорт – основа интегрированной системы защиты растений. Ржавчинные заболевания (бурая, желтая и стеблевая ржавчины) – особо опасные заболевания пшеницы. Среди них стеблевая ржавчина (возбудитель – биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & Henning) наиболее вредоносна. Появление в Уганде в 1999 г. новой высоко агрессивной расы Ug99 (ТТКСК), поразившей сорта пшеницы с геном *Sr31*, сохранявшим эффективность на протяжении более 30 лет, поставило под угрозу производство пшеницы во всем мире. При эпифитотийном развитии болезни на восприимчивых сортах потери урожая могут достигать от 50 до 100% (Hailu et al., 2015). Позднее появились биотипы расы Ug99, поражающие также сорта с генами *Sr24* (раса ТТКСТ) и *Sr36* (ТТТСК). К 2018 г. насчитывается уже 13 биотипов этой расы (СИММУТ). На настоящий момент раса Ug99 распространилась в страны Африки и Ближнего Востока и мигрирует в направлении Средней и Юго-Восточной Азии. Возможен ее занос и на территорию Российской Федерации. С другой стороны, в последние годы наблюдается усиление вредоносности стеблевой ржавчины

и на территории России: эпифитотийное развитие болезни отмечалось в 2015–2018 гг. в Западной Сибири и Нижнем Поволжье. (Sibikeev et al., 2017; Сколотнева и др., 2020). В 2016 г. распространение стеблевой ржавчины отмечалось на посевах яровой мягкой пшеницы в период колошения на всей территории Республики Татарстан. Все сорта пшеницы, рекомендованные для возделывания в Татарстане, были восприимчивы, кроме сортов Тулайковская 5 и Белка, а также образцов *Triticum dicoccum* Schrank (Василова и др., 2017). По данным Росгидромета на территории нашей страны происходит изменение климата в сторону увеличения температуры и влажности, что создает благоприятные условия для развития возбудителя стеблевой ржавчины. В результате селекции, направленной на продуктивность и качество зерна, произошло сильное обеднение генофонда пшеницы по многим признакам, в том числе и по устойчивости к грибным болезням. Большинство современных сортов пшеницы восприимчивы к возбудителю стеблевой ржавчины, а устойчивые российские сорта в основном защищены генами *Sr31* и *Sr25* (Волкова, Синяк, 2011).

Целью работы был анализ устойчивости к стеблевой ржавчине и идентификация *Sr* генов у новых сортов пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2017–2018 гг.

Материалы и методы

В работе использовали 32 сорта мягкой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2017–2018 гг. Для анализа устойчивости растений к стеблевой ржавчине использовали монопустульные

изоляты, выделенные из популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*, собранных в Лысогорском районе Саратовской области и Зерноградском районе Ростовской области в 2017 г., а также омскую популяцию патогена 2018 г.

Фитопатологическую оценку проводили по стандартной лабораторной методике на проростках (Jin et al., 2007). Образцы, взятые в анализ, выращивали в пластиковых кюветах 11×15×6 см, наполненных почвоторфяным грунтом «Терра Вита» на светоустановках при 21–23 °С с 14-часовым фотопериодом. В каждую кювету высаживали по 10 образцов (по три растения на образец) плюс восприимчивый контроль – сорт Хакасская. Десятидневные проростки с полностью развернутым первым листом инокулировали суспензией спор *P. graminis* (концентрация 1 мг/мл). Инокулированные растения помещали во влажную камеру в темноту на 16 ч. при 24 °С и относительной влажности 100%, а затем возвращали на светоустановку при 26 °С. Реакцию проростков образцов пшеницы на инокуляцию суспензией спор возбудителя стеблевой ржавчины учитывали на 10–12-е сутки после заражения по 4-балльной шкале Е.С. Stakman и М.Н. Levine (1962): «0» – отсутствие видимых симптомов (иммунная реакция); «0;» – мелкие некротические пятна, урединиопустулы отсутствуют; «1» – мельчайшие урединиопустулы, окруженные некротическими областями; «2» – небольшие урединиопустулы, окруженные некрозом или хлорозом; «3» – средние урединиопустулы, некроз отсутствует, могут быть окружены хлорозом; «4» – большие, часто сливающиеся урединиопустулы, как правило, без хлороза. Знаки «+» или «-», связанные с типом реакции, обозначают урединиопустулы, которые, соответственно, больше или меньше, чем классически описанные размеры. Типы реакции от «0» до «2» соответствуют устойчивости, «3» и «4» – восприимчивости образца. Оценка на устойчивость проводили в двух повторностях.

Анализ вирулентности *P. graminis* f. sp. *tritici* был выполнен на наборе из 20 почти изогенных линий-дифференциаторов (North American differential set: *Sr5*, *Sr21*, *Sr9e*, *Sr7b*, *Sr11*, *Sr6*, *Sr8a*, *Sr9g*, *Sr36*, *Sr9b*, *Sr30*, *Sr17*,

Sr9a, *Sr9b*, *Sr10*, *SrTmp*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr38*, *SrMcN*), других линиях с *Sr* генами (*Sr2compl*, *Sr8b*, *Sr11*, *Sr12*, *Sr13*, *Sr15*, *Sr17+13*, *Sr20*, *Sr22*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr27*, *Sr28*, *Sr29*, *Sr32*, *Sr33+5*, *Sr33*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr37*, *Sr39*, *Sr40*, *Sr44*, *SrDb*, *SrWLD*, *SrWLD-1*, *Sr24+31*, *Sr36+31*, *Sr24+31*, *Sr31+36*, *Sr24+36*, *Sr2+23*, *Sr7a+12*, *Sr7b+18*, *Sr26+9g*), сортах Аврора (*Sr31*) и Хакасская (восприимчивый контроль).

ДНК выделяли из 5-дневных проростков растений пшеницы СТАВ методом (Murray, Thompson, 1980). Для идентификации генов устойчивости использовали тесно сцепленные с ними маркеры, которые выявляют в ПЦР со специфичными праймерами: маркер *csSr2* для гена *Sr2* (Mago et al., 2011); *Gb* для *Sr25/Lr19* (Ayala-Navarrete et al., 2007); *Sr26#43* для *Sr26* (Mago et al., 2005); *scm9* для *Sr31/Lr26* (Weng et al., 2007); *csSr32#1* и *csSr32#2* для гена *Sr32* (Mago et al., 2013); *Xcfa2071* и *XBF485004* для *Sr35* (Zhang et al., 2010); *Xcmwg682* для *Sr38* (Helguera et al., 2003); *Xwmc477* и *Xstm773-2* для *Sr36* (Tsilo et al., 2008); *wPt-7004-PCR* и *Xwmc332* для *Sr28* (Rouse et al., 2012); *csLV34* для *Sr57/Lr34* (Lagudah et al., 2006). В качестве положительного контроля реакции использовали изогенные линии или сорта, несущие анализируемые гены, в качестве отрицательного контроля – восприимчивый сорт Хакасская. ПЦР проводили в амплификаторе C1000 Thermal Cycler (Bio-Rad). Продукты амплификации разделяли методом электрофореза в 2% агарозных гелях, окрашенных бромистым этидием, при напряженности 100 В в 0,5× ТБЕ буфере. В качестве маркера молекулярной массы использовали GeneRuler™ 50kb DNA Ladder (Fermentas). Все ПЦР для анализируемых образцов пшеницы со всеми праймерами проводили не менее, чем в двух повторностях. Наличие или отсутствие искомого *Sr* гена определяли по наличию или отсутствию соответствующего диагностического фрагмента для маркера, сцепленного с этим геном.

Результаты

Фитопатологический анализ устойчивости к возбудителю стеблевой ржавчины

Для анализа устойчивости сортов были взяты омская популяция возбудителя стеблевой ржавчины 2018 г. и монопустульные изоляты PgtF1 и PgtZ1, выделенные из саратовской и ростовской популяций патогена. Против омской популяции гриба эффективны гены *Sr2*, *Sr9e*, *Sr30*, *Sr13*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr32*, *Sr35*, *Sr20*, *Sr27*, *Sr37*, *Sr31* и сочетания генов *Sr24+Sr31*, *Sr36+Sr31*, *Sr26+Sr9g*. Расы монопустульных изолятов представлены в таблице 1. Нужно отметить, что ген *Sr31* пока сохраняет эффективность на территории Российской Федерации.

Результаты лабораторной оценки устойчивости сортов к стеблевой ржавчине на стадии проростков представлены в таблице 2. Из 32 сортов пшеницы, 11 сортов (34.4%) были устойчивы как к монопустульным изолятам гриба, так и к омской популяции патогена. Это сорта озимой мягкой пшеницы Обская озимая, Астарта, Леонида, Веха, Велена, Караван, Безостая 100, Алексеич, Степь, Жива и Ваня.

Сорта Прииртышская, Везелка, Базис, Универсиада, Дуплет и Граф были восприимчивы. Сорта Даная, Поволжская нива, Дарина, Туранус, Клавдия 2, Стрелецкая 12, Вид и Сварог устойчивы к омской популяции патогена.

Сорт Италмас устойчив к омской популяции гриба и монопустульному изоляту PgtZ1.

Все шесть изученных яровых сортов мягкой пшеницы были восприимчивы к монопустульному изоляту PgtZ1. Сорт Арабелла был устойчив к монопустульному изоляту, выделенному из лысогорской популяции патогена, и к омской популяции *P. graminis*. Сорта Каликсо и Сонетт устойчивы к омской популяции патогена, а сорт Рима средне устойчив (тип реакции 2+) к монопустульному изоляту PgtF1. Сорта Воронежская 18 и Ликамеро были восприимчивы.

Идентификация генов устойчивости

У изученных сортов идентифицирован ген *Sr31*, который обуславливает устойчивость к местным популяциям *P. graminis*, но неэффективен к расе Ug99 (табл. 2). Для его идентификации был использован маркер *scm9*, выявляющий ржаную транслокацию 1BL.1RS, несущую кластер генов устойчивости к стеблевой (*Sr31*), бурой (*Lr26*), желтой (*Yr9*) ржавчинам и мучнистой росе (*Pm8*). С использованием молекулярного маркера *scm9* транслокация 1RS.1BL идентифицирована у 14 сортов (43.75%). Все сорта, устойчивые ко всем, взятым в анализ изолятам гриба и омской популяции патогена, имели транслокацию 1RS.1BL (*Sr31*). У сортов Дуплет, Сварог, Стрелецкая 12 также была выявлена транслокация 1RS.1BL (*Sr31*),

однако эти сорта были восприимчивы к стеблевой ржавчине, что указывает на их гетерогенность по транслокации 1RS.1BL (*Sr31*). Для подтверждения гетерогенности образцов каждого из трех сортов было взято по 10 зерен, из каждого выделена ДНК и поставлена ПЦР с праймерами на маркер scm9. Результаты ПЦР анализа подтвердили гетерогенность данных сортов по гену *Sr31* (рис.).

Ген возрастной устойчивости *Sr57(Lr34/Yr18/Pm38)* идентифицирован у пяти озимых сортов с использованием маркера csLV34. С использованием маркеров wPt-7004-PCR и wmc332 у сорта Велена идентифицирован ген *Sr28*, не эффективный против российских популяций стеблевой ржавчины, но эффективный против расы Ug99. Гены *Sr2*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr32*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr1AIR* в анализируемом материале обнаружены не были.

Таблица 1. Вирулентность монопустульных изолятов *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*

Изолят	Раса	Вирулентность к линиям с <i>Sr</i> -генами (20 линий – дифференциаторов)	Количество генов вирулентности
PgtF1	SGDTF	5,21,9e,6, 30, 9a, 9d,10,Tmp,38,McN	11
PgtZ1	TKTTF	5,21,9e,7b,6,8a,9g,36,9b,30,17,9a,9d,10,Tmp,38, McN	17

Таблица 2. Результаты фитопатологического анализа сортов пшеницы и идентификации *Sr*-генов

Сорт	Оригинатор	Устойчивость к <i>P. graminis</i> (типы реакции растений на заражение)			<i>Sr</i> гены
		PgtF1	омская популяция	PgtZ1	
<i>яровая пшеница</i>					
Арабелла	Danko Hodowla Roslin sp. ZO.O. Poland	2	1-2	4	-*
Воронежская 18	НИИСХ Центрально-Черноземной полосы имени В.В. Докучаева	3-	3+	4	-
Каликсо	Secobra Recherches S.A.S France	3	1	3+	-
Лицамеро		3-	3	3	-
Сонетт	Lantmannen SW seed AB Sweden	4	1	4	-
Рима	Федеральный Научный Агроинженерный Центр ВИМ	2++	3	3	-
<i>озимая пшеница</i>					
Прииртышская	Омский Аграрный Научный Центр	4	3	3	-
Даная	Федеральный Научный Агроинженерный Центр ВИМ	4	3	3+	-
Обская озимая	Федеральный Исследовательский Центр Институт Цитологии и Генетики Сибирского Отделения РАН	1	1	1	<i>Sr31</i>
Астарта	Институт Физиологии Растений и Генетики НАН Украины	10;	0;	0	<i>Sr31</i>
Везелка	Белгородский Федеральный Аграрный Научный Центр РАН	3	3	3	-
Поволжская нива	Поволжский НИИ Селекции и Семеноводства им. П.Н. Константинова	4	1	4	-
Дарина	Федеральный Исследовательский Центр Казанский Научный	3	2	4	-
Универсиада	Центр Российской Академии Наук	3	3	3	-
Базис	Самарский НИИСХ	3	3	3+	<i>Sr57/Lr34</i>
Леонида	крестьянское хозяйство Ивашова Александра Дмитриевича	2-	1	2	<i>Sr31</i>
Туранус	Saatzucht Donau GMBH & CO KG Austria	4	1	1	-
Клавдия 2	Пензенский Научно-Исследовательский Институт Сельского Хозяйства	3	1;	3+	-
Стрелецкая 12	ООО Зернобобовые культуры-Центр	3	1	4	<i>Sr31</i>
Италмас	Удмуртский Научно-Исследовательский Институт Сельского Хозяйства	3	2	3	-
Веха		0;	1=	0	<i>Sr31</i>
Вид		3-	1	4	-
Сварог	Национальный Центр Зерна имени П.П. Лукьяненко	4	0;	4	<i>Sr31</i>
Безостая 100	ООО НПО Кубаньзерно	1-	1	0;	<i>Sr31+Sr57</i>
Алексеич		1-	0;	1	<i>Sr31</i>
Жива		1=	1	0;	<i>Sr31+Sr57</i>
Велена		0;	0;	0;	<i>Sr31+Sr28</i>
Караван		0	1;	2	<i>Sr31</i>
Дуплет		4	3	4	<i>Sr31+Sr57</i>
Степь	Национальный Центр Зерна Имени П.П. Лукьяненко	1-	1-	1	<i>Sr31</i>
Граф		4	3	4	-
Ваня		1=	0;	0;	<i>Sr31+Sr57</i>
Хакасская**		4	4	4	-

*“-“ – гены не идентифицированы; ** – восприимчивый контроль

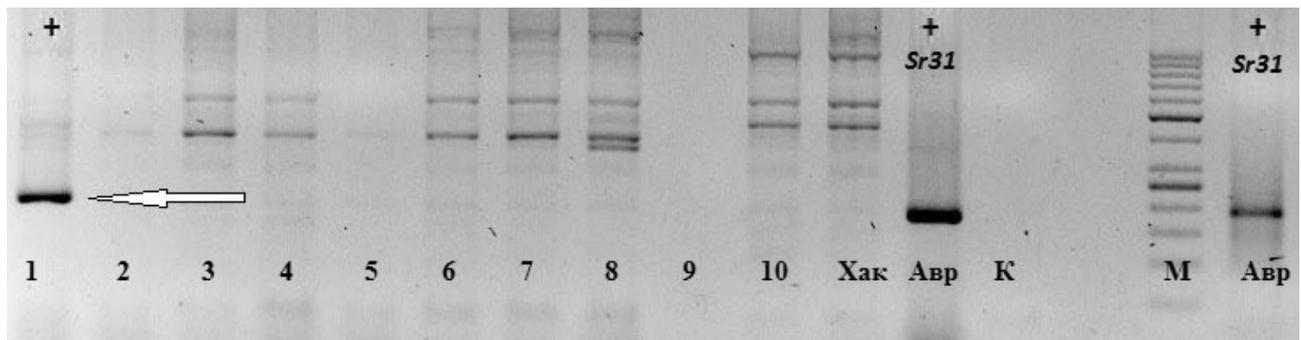


Рисунок. Подтверждение гетерогенности сорта Стрелецкая 12 по транслокации 1BL.1RS (*Sr31*), маркер *scm9*. М – маркер молекулярного веса (50 п.н.), 1–10 образцы зерна Стрелецкая 12, «Хак» – сорт Хакасская (отрицательный контроль), «Авр» – сорт Аврора (*Sr31*), «К» – контроль без ДНК. Стрелкой показан диагностический фрагмент 207 п.н.

Обсуждение

В связи с усилением вредоносности стеблевой ржавчины, во всем мире проводится молекулярный скрининг генов устойчивости к болезни (*Sr* генов) у яровых и озимых сортов мягкой пшеницы. В США гены устойчивости *Sr2*, *Sr6*, *Sr17*, *Sr24*, *Sr31*, *Sr36* и *SrTmp* распространены в сортах озимой пшеницы, а в сортах яровой пшеницы – *Sr6*, *Sr9b*, *Sr11* и *Sr17* (Kolmer et al., 2007). При анализе китайских сортов пшеницы идентифицированы гены *Sr2*, *Sr31*, *Sr25* и *Sr38* (Xu et al., 2018), а также *Sr28* (Li et al., 2016). В последние годы гены устойчивости к стеблевой ржавчине идентифицируют и у европейских сортов пшеницы. Так, например, в хорватских сортах были выявлены гены *Sr8a*, *Sr31*, *Sr36* и *Sr38* (Spanic et al., 2015), а в немецких сортах широко распространен *Sr38* и несколько реже встречаются *Sr31* и *Sr24* (Flath et al., 2018).

У новых российских сортов пшеницы в основном были идентифицированы гены *Sr31* и *Sr57*. Ген *Sr31* на настоящий момент – единственный эффективный ген против всех российских популяций возбудителя стеблевой ржавчины (Baranova et al., 2019). Как упоминалось выше, он интрогрессирован в пшеницу от ржи (*Secale cereale* L.), локализован в транслокации 1BL.1RS и тесно сцеплен с генами устойчивости к бурой (*Lr26*) и желтой (*Yr9*) ржавчинам, а также к мучнистой росе (*Pm8*). К настоящему времени транслокация 1BL/1RS присутствует более чем в 650 сортах мягкой пшеницы в Европе, Азии, Австралии и Америке (Булойчик, Долматович, 2015). Сорта Аврора и Кавказ – носители 1BL/1RS, долгое время использовались в качестве родительских форм при создании устойчивых к стеблевой ржавчине сортов. Среди российских сортов пшеницы транслокация 1BL/1RS представлена, например, в озимых сортах пшеницы, селекции Национального центра зерна имени П.П. Лукьяненко (Беспалова и др., 2012,

2019, Давоян и др., 2014). Так, в настоящей работе из 14 сортов с геном *Sr31* девять оказались сортами озимой пшеницы селекции ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко». Из проанализированных 32 новых сортов пшеницы в пяти (Базис, Безостая 100, Жива, Дуплет и Ваня) идентифицирован ген *Sr57(Lr34/Yr18/Pm38)*. Локус *Lr34/Sr57/Yr18//Pm38* широко распространен в сортах российской селекции, в основном Северо-Кавказском и Нижневолжском регионах (Гульятеева, 2012; Вождова, 2018; Шишкин и др., 2018). Сорта пшеницы, содержащие локус *Lr34/Yr18/Sr57//Pm38*, детерминирующий возрастную устойчивость по типу “slow rusting” часто восприимчивы к стеблевой ржавчине (Волуевич, 2016). Однако показано, что STS маркер гена *Lr34* – *csLV34* тесно ассоциирован с устойчивостью к Ug99 в озимых и яровых сортах СИММУТ (Yu et al., 2014). И, кроме того, показано взаимодействие *Lr34/Yr18/Sr57//Pm38* с другими генами устойчивости. Так, при сочетании *Lr34* с геном устойчивости к стеблевой ржавчине *SrCad* наблюдался аддитивный эффект – значительное повышение устойчивости к расе возбудителя стеблевой ржавчины Ug99 (Hiebert et al., 2010).

Надо отметить, что сорта озимой мягкой пшеницы Обская озимая, Астарта, Леонида, Велена, выделенные как устойчивые к стеблевой ржавчине на стадии проростков в настоящей работе, по данным оригинаторов также устойчивы в полевых условиях к бурой ржавчине (Госсортокмиссия). Сорт Караван устойчив к желтой ржавчине, а сорта Степь и Ваня – к бурой и желтой ржавчинам. Сорта Веха и Алексеич по данным оригинатора (ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко») и сорта Безостая 100 и Жива по данным И.П. Матвеевой с соавторами (2019) высокоустойчивы ко всем трем видам ржавчины (бурой, желтой и стеблевой) в полевых условиях.

Заключение

Таким образом, среди российских сортов, внесенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2017–2018 гг., выделены высокоустойчивые к стеблевой ржавчине сорта с идентифицированными генами устойчивости: Астарта, Веха, Обская озимая, Леонида, Караван, Алексеич и Степь с геном *Sr31*, Велена (*Sr31+Sr28*) и сорта Безостая 100, Жива и Ваня с сочетанием генов

Sr31+Sr57. Следует отметить, что сорта Велена, Жива, Ваня и Безостая 100 имеют сочетания гена *Sr31*, эффективного против российских популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*, и генов *Sr28* и *Sr57*, эффективных против биотипов расы Ug99, что делает их перспективными для возделывания в условиях эпифитотийного развития болезни.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность за предоставленный семенной материал доктору с.-х. наук, заведующему лабораторией селекции пшеницы на устойчивость к болезням ФГБНУ «НЦЗ им П.П. Лукьяненко» Абловой Ирине Борисовне и начальнику отдела развития продуктов, АО Фирма «Август» Белову Дмитрию Александровичу.

Библиографический список (References)

- Беспалова ЛА, Аблова ИБ, Худокормова ЖН, Пузырная ОЮ и др. (2019) Генетическая защищенность сортов озимой пшеницы от ржавчинных болезней. *Рисоводство*. 4(45):30–37
- Беспалова ЛА, Васильев АВ, Аблова ИБ, Филобок ВА и др. (2012) Применение молекулярных маркеров селекции пшеницы в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 16(1):37–43
- Булойчик АА, Долматович ТВ (2015) Молекулярная идентификация генов устойчивости к бурой ржавчине в озимых сортах пшеницы, выращиваемых в Беларуси. *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі Серыя біялагічных навук* 3:46–50
- Василова НЗ, Асхадуллин ДФ, Асхадуллин ДФ (2017) Эпифитотия стеблевой ржавчины на яровой пшенице в Татарстане. *Защита и карантин растений* 2:27–28
- Вожжова НН (2018) Идентификация гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* в сортах и коллекционных образцах озимой мягкой пшеницы Аграрного научного центра «Донской». *Вавиловский журнал генетики и селекции* 22(3):329–332. <https://doi.org/10.18699/VJ18.368>
- Волкова ГВ, Синяк ЕВ (2011) Эффективные гены устойчивости пшеницы к возбудителю стеблевой ржавчины пшеницы на юге России. *Наука Кубани* 2:34–36
- Волуевич ЕА (2016) Плейотропные эффекты генов устойчивости мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к биотрофным грибным патогенам. *Весті нацыянальнай акадэміі навук беларусі Серыя біялагічных навук* 2:115–125
- Госсоркомиссия. Электронный ресурс: <http://gossortrf.ru/> (просмотрено 29 мая 2020).
- Гулятьева ЕИ (2012) Генетическое разнообразие российских сортов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителю бурой ржавчины. *Доклады Российской Академии сельскохозяйственных наук* 2:29–32
- Давоян ЭР, Беспалова ЛА, Давоян РО, Зубанова ЮС и др. (2014) Использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к бурой ржавчине в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 18(4/1):732–738
- Матвеева ИП, Ким ЮС, Ваганова ОФ, Мирошниченко ОО и др. (2019) Устойчивость широко районированных сортов озимой пшеницы различной селекции к эпифитотийно опасным заболеваниям: бурой, желтой, стеблевой ржавчине и желтой пятнистости листьев пшеницы в Краснодарском крае. *Международный научно-исследовательский журнал* 12(78):40–44. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2018.78.12.044>
- Сколотнева ЕС, Кельбин ВН, Моргунов АИ, Бойко НИ, и др. (2020) Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Микология и фитопатология* 54(1):49–58. <https://doi.org/10.31857/S0026364820010092>
- Шишкин НВ, Дерова ТГ, Гулятьева ЕИ, Шайдаюк ЕЛ (2018) Определение генов устойчивости к бурой ржавчине у сортов озимой мягкой пшеницы с использованием традиционных и современных методов исследований. *Зерновое хозяйство России* 5(59):63–67. <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2018-59-5-63-67>
- Ayala-Navarrete L, Bariana HS, Singh RP, Gibson JM *et al.* (2007) Trigenomic chromosomes by recombination of *Thinopyrum intermedium* and *Th. ponticum* translocations in wheat. *Theor Appl Genet* 116:63–75. <https://doi.org/10.1007/s00122-007-0647-5>
- Baranova OA, Sibikeev SN, Druzhin A E (2019) Molecular identification of the stem rust resistance genes in the introgression lines of spring bread wheat. *Vavilov J of Genet and Breeding* 23(3):296–303. <https://doi.org/10.18699/VJ19.494>
- CIMMYT. Available online: https://rusttracker.cimmyt.org/?page_id=22 (просмотрено 29 мая 2020).
- Flath K, Miedaner T, Olivera P, Matthew N *et al.* (2018) Genes for wheat stem rust resistance postulated in German cultivars and their efficacy in seedling and adult-plant field tests. *Plant Breeding* 1–12. <https://doi.org/10.1111/pbr.12591>
- Hailu A, Woldeab G, Dawit W, Hailu E (2015) Distribution of Wheat Stem Rust (*Puccinia Graminis* F. Sp. *Tritici*) in West and Southwest Shewa Zones and Identification of its Physiologic Races. *Adv Crop Sci Tech* 3:189. <https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000189>
- Helguera M, Khan IA, Kolmer J, Lijavetzky D *et al.* (2003) PCR assays for the Lr37-Yr17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Sci* 43:1839–1847
- Hiebert CW, Fetch TG, Zegeye T, Thomas JB *et al.* (2011) Genetics and mapping of seedling resistance to Ug99 stem rust in Canadian wheat cultivars ‘Peace’ and ‘AC Cadillac’. *Theor Appl Genet* 122:143–149. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1430-6>
- Jin Y, Singh RP, Ward RW, Wanyera R *et al.* (2007) Characterization of seedling infection types and adult plant infection responses of monogenic Sr gene lines to race TTKS of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Plant Disease* 91:1096–1099
- Kolmer JA, Jin Y, and Long D L (2007) Wheat leaf and stem rust in the United States. *Australian J of Agricultural Research* 58:631–638
- Lagudah ES, McFadden H, Singh RP, Huerta-Espino J *et al.* (2006) Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor Appl Genet* 114:21–30
- Li TY, Cao YY, Wu XX, Xu XF *et al.* (2016) Seedling Resistance to Stem Rust and Molecular Marker Analysis of Resistance Genes in Wheat Cultivars of Yunnan, China. *PLOS ONE* 11(10) e0165640. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165640>
- Mago R, Bariana HS, Dundas IS, Spielmeier W *et al.* (2005) Development of PCR markers for the selection on wheat stem rust resistance genes Sr24 and Sr26 in diverse wheat germplasm. *Theor Appl Genet* 111:496–504. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2039-z>
- Mago R, Simkova H, Brown-Guedira G, Dreisigacker S, *et al.* (2011) An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat. *Theor Appl Genet* 122:735–744. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1482-7>
- Mago R, Verlin D, Zhang P, Bansal U *et al.* (2013) Development of wheat–*Aegilops speltoides* recombinants and simple PCR-based markers for *Sr32* and a new stem rust resistance gene on the 2S#1 chromosome. *Theor Appl Genet* 126:2943–2955. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2184-8>
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 4321–4325.
- Rouse MN, Nava IC, Chao S, Anderson JA *et al.* (2012) Identification of markers linked to the race Ug99 effective stem rust resistance gene *Sr28* in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 125:877–885. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1879-6>
- Sibikeev SN, Druzhin AE, Vlasovec LT, Golubeva TD *et al.* (2017) The reaction of introgression lines of spring bread wheat to leaf rust, stem rust and tan spot in 2016. *Annual Wheat Newsletter KSU USA* 63:57–58.
- Spanic V, Rouse MN, Kolmer JA, Anderson JA (2015) Leaf and stem seedling rust resistance in wheat cultivars grown in Croatia. *Euphytica* 203:437–448. <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1312-0>
- Stakman EC, Stewart DM, Loegering WQ (1962) Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. *United States Department of Agriculture–Agricultural Research Service* E-617 (rev).
- Tsilo TJ, Jin Y, Anderson JA (2008) Diagnostic microsatellite markers for detection of stem rust resistance gene *Sr36* in diverse genetic backgrounds of wheat. *Crop Sci* 48:253–261. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0204>
- Weng Y, Azhaguel P, Devkota RN, Rudd JC (2007) PCR-based markers for detection of different sources of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat–rye translocations in wheat background. *Plant Breeding* 126:482–486. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01331.x>

- Xu X, Yuan D, Li D, Gao Y *et al.* (2018) Identification of stem rust resistance genes in wheat cultivars in China using molecular markers. *PeerJ*. 6:e4882. <https://doi.org/10.7717/peerj.4882>
- Yu L-X, Barbier H, Rouse MN, Singh S *et al.* (2014) A consensus map for Ug99 stem rust resistance loci in wheat. *Theor Appl Genet* 127:1561-1581. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2326-7>
- Zhang W, Olson E, Saintenac C, Rouse M *et al.* (2010) Genetic maps of stem rust resistance gene *Sr35* in diploid and hexaploid wheat. *Crop Sci* 50:2464–2474. <https://doi.org/10.2135/cropsci2010.04.0202>

Translation of Russian References

- Bespalova LA, Ablova IB, Khudokormova ZhN, Puzyrnaya OYu *et al.* (2019) [Genetic protection of winter wheat varieties from rust diseases]. *Risovodstvo*. 4(45):30–37 (In Russian)
- Bespalova LA, Vasilyev AV, Ablova IB, Filobok VA *et al.* (2012) [The use of molecular markers in wheat breeding at the Lukyanenko Agricultural Research Institute]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* 16(1):37–43 (In Russian)
- Buloychik AA, Dolmatovich TV (2015) [Molecular identification of resistance genes to leaf rust of winter wheat varieties released in the areas of the republic of Belarus]. *Vesti Natsyonalnay akademii navuk Belarusi Seryya byalagichnykh navuk* 3:46–50 (In Russian)
- Vasilova NZ, Askhadullin DF, Askhadullin DF (2017) [Stem rust epiphytotic on soft spring wheat in Tatarstan]. *Zashchita i karantiny rasteniy* 2:27–28 (In Russian)
- Vozhzhova NN (2018) [Identification of the Lr34 gene for resistance to leaf rust in varieties and collection samples of winter soft wheat from the Agricultural Research Center “Donskoy”]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* 22(3):329–332. <https://doi.org/10.18699/VJ18.368> (In Russian)
- Volkova GV, Sinyak YEV (2011) [Effective resistance genes to the causative agent of stem rust of wheat in southern Russia]. *Nauka Kubani* 2:34–36 (In Russian)
- Voluyevich YEA (2016) [Pleiotropic effects of resistance genes of common wheat (*Triticum aestivum* L.) to biotrophic fungal pathogens]. *Vesti natsyonalnay akademii navuk belarusi Seryya byalagichnykh navuk* 2:115–125 (In Russian)
- Gulyayeva YEI (2012) [Genetic diversity of Russian varieties in common wheat by resistance to stem rust exciter]. *Doklady Rossiyskoy Akademii selskokhozyaystvennykh nauk* 2:29–32 (In Russian)
- Davoyan ER, Bespalova LA, Davoyan RO, Zubanova YUS *et al.* (2014) [Use of molecular markers in wheat breeding for resistance to leaf rust at the Lukyanenko Research Institute of Agriculture]. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii* 18(4/1):732–738 (In Russian)
- Matveyeva IP, Kim YuS, Vaganova OF, Miroshnichenko OO *et al.* (2019) [Stability of widely distributed varieties of winter wheat of different selection to epiphytically dangerous diseases: brown, yellow, stem rust, and yellow spots of wheat leaves in Krasnodar Region]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal* 12(78):40–44. <https://doi.org/10.23670/IRJ.2018.78.12.044> (In Russian)
- Skolotneva YES, Kelbin VN, Morgunov AI, Boyko NI *et al.* (2020) [Races Composition of the Novosibirsk Population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*]. *Mikologiya i fitopatologiya* 54(1):49–58. <https://doi.org/10.31857/S0026364820010092> (In Russian)
- SHishkin NV, Derova TG, Gulyayeva YEI, SHaydayuk YEL (2018) [Identification of the genes resistant to brown rust in winter soft wheat varieties with the use of conventional and modern research methods]. *Zernovoye khozyaystvo Rossii* 5(59):63–67. <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2018-59-5-63-67> (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(2), p. 113–118

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-4936>

Full-text article

MOLECULAR IDENTIFICATION OF STEM RUST RESISTANCE GENES IN NEW REGIONAL WHEAT VARIETIES

O.A. Baranova

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

e-mail: baranova_oa@mail.ru

Harmfulness of stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) constantly increases and virulent races, including Ug99 group, are spreading on the territory of Russian Federation. Analysis of diversity in resistance genes (*Sr* genes) of Russian wheat varieties is therefore of great importance. In this study, 32 new soft wheat varieties, included in the State Register of Breeding Achievements in 2017–2018, were evaluated for resistance to stem rust at the seedling stage, and *Sr* genes were identified using molecular markers. To analyze the resistance of the varieties, the Omsk stem rust pathogen population 2018 years was used, as well as monopustule isolates PgtF1 and PgtZ1 from Saratov and Rostov pathogen populations. Phytopathological analysis was carried out using standard laboratory methods. The virulence analysis of the *P. graminis* f. sp. *tritici* was performed against a set of 20 differentiators (North American differential set) and 35 additional *Sr* lines. To identify the resistance genes (*Sr2*, *Sr24*, *Sr25*, *Sr26*, *Sr28*, *Sr31*, *Sr32*, *Sr35*, *Sr36*, *Sr38*, *Sr57*, and *Sr1A1R*), specific primers were used. Among the bread wheat varieties analyzed, those with high resistance to stem rust and known resistance genes were identified: Astarta (*Sr31*), Vekha (*Sr31*), Obskaya Ozimaya (*Sr31*), Leonida (*Sr31*), Karavan (*Sr31*), Alekseich (*Sr31*), Step' (*Sr31*), Bezostaya 100 (*Sr31*+*Sr57*), Zhiva (*Sr31*+*Sr57*) Vanya (*Sr31*+*Sr57*) and Velenka (*Sr31*+*Sr28*). The latter four varieties possessed combinations of the *Sr31* gene, effective against Russian populations of *P. graminis* f. sp. *tritici*, and *Sr28* and *Sr57* genes, effective against the Ug99 race group. These features make these varieties promising for cultivation under conditions of epiphytotic development of the pathogen.

Keywords: wheat, resistance, stem rust, *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, *Sr* genes, molecular markers

Received: 10.03.2020

Accepted: 29.05.2020

ВЫДЕЛЕНИЕ УРОВНЕЙ ФИТОСАНИТАРНОГО РАЙОНИРОВАНИЯ ТЕРРИТОРИИ В ОТНОШЕНИИ СОРНЫХ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

Н.Н. Лулева

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: natalja.luneva2010@yandex.ru

Культурные и сорные растения обусловлены в своем распространении природно-климатическими факторами, но распространение видов сорных растений не привязано непосредственно к зонам возделывания культурных растений, поэтому агроэкологическое районирование не может быть основой фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений. Региональный пул видов растений, связанных со вторичными местообитаниями, служит основой региональной сорной флоры. Эти виды оказываются наиболее приспособлены к быстрому заселению и выживанию в агроэкосистемах, подвергающихся периодическим интенсивным антропогенным воздействиям в ходе хозяйственной деятельности. Сорная флора региона представляет собой объект изучения и основу выделения макроуровня фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений. Она определяется преимущественно климатическими особенностями и административно соответствует регионам или областям. Основу выделения мезоуровня составляет сорная флора агроклиматических районов (отличающихся почвенно-климатическими условиями), а сорная флора агроэкосистемы – основу выделения микроуровня. Обращение не просто к территориальной совокупности видов сорных растений, а к сорной флоре, как к объекту, географо-экологически привязанному к конкретной территории, имеющему структуру и характеризующемуся взаимодействием объектов разных видов, вписывается в рамки синэкологического подхода к изучению сорных растений.

Ключевые слова: макроуровень, мезоуровень, микроуровень, сорная флора, элементарная флора, Ленинградская область

Поступила в редакцию: 19.11.2019

Принята к печати: 26.06.2020

Введение

Одна из наиболее важных задач защиты растений заключается в фитосанитарном районировании территории России, которое служит основой мониторинга и прогноза распространения вредных объектов (Павлюшин, 2011; Гричанов, Овсянникова, 2013, 2015). Распространение отдельного вида сорного растения обычно районировано на зону вредоносности (зону оптимума вида), зону основного и спорадического распространения (Афонин и др., 2008). Но, в практическом плане чрезвычайно важны сведения о произрастании в каждом отдельном регионе целого комплекса видов сорных растений для разработки на этой основе региональной стратегии борьбы с ними. Изучение особенностей распространения видов сорных растений региональных комплексов на меньших по размеру географических выделах и распространенности на локальных площадях в пределах регионов базируется на выделении этих соподчиненных территорий, то есть на районировании. Под любым районированием территории понимается объединение площадей, сходных между собой, но отличающихся от других по ряду параметров. Фитосанитарное районирование территории в отношении сорных растений подразумевает объединение (на разных масштабных уровнях) площадей, сходных по видовому составу сорных растений, там произрастающих, с целью прогнозирования их присутствия на этой территории и разработки систем их контроля.

Постановка задачи фитосанитарного районирования территории относительно сорных растений, сопряжена, на первый взгляд, с задачей агроэкологического районирования территории страны, на основе которого

осуществляется адаптивное размещение зон возделывания культурных растений. Эта связь обусловлена тем, что сорные растения представляют собой обязательные компоненты растительных сообществ, формирующихся в местах возделывания культурных растений – агрофитоценозов (Мальцев, 1962; Миркин и др., 2003; Ульянова, 2005; Лулева, 2018). Адаптивное размещение зон возделывания культурных растений базируется на их уникальных качествах, обеспечивающих рост и развитие определенной культуры в благоприятных для нее условиях. В этих же условиях формируется и развивается комплекс видов сорных растений, образующий сорный компонент агрофитоценоза в посевах (посадке) данной культуры.

Из этого можно сделать ошибочное заключение, что фитосанитарное районирование в отношении сорных растений должно базироваться на распределении зон возделывания сельскохозяйственных культур, то есть, на агроэкологическом районировании территории. Фитосанитарное районирование территории, например, в отношении энтомологических вредных объектов, осуществляется, в ряде случаев, путем наложения карт ареалов вредных объектов, представленных в «Агроэкологическом атласе России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения» (Афонин и др., 2008), на карты зон возделывания отдельных сельскохозяйственных культур, размещенных там же (Гричанов и др., 2018). Однако, специализированных видов сорных растений крайне мало (плевел расставленный или льняной *Lolium remotum* Schrad. в посевах льна, костер ржаной *Bromus secalinus* L. в посевах ржи, ежовник рисовидный

Echinochloa oryzoides (Ard.) Fritsch в посевах риса и т.п.), и практически все виды сорных растений можно обнаружить в агрофитоценозах всех сельскохозяйственных культур (Ульянова, 2005; Лунева и др., 2007, 2009, 2010, 2014; Лунева, Мыслик, 2016). В составе агрофитоценоза севооборота присутствует значительное количество видов сорных растений, частота встречаемости и обилие которых меняются на каждом поле под влиянием средообразующей роли культуры (Марков, 1972; Филиппова, 2012, 2012а). Эти же виды входят в состав растительных сообществ не только сеgetальных, но и других вторичных местообитаний агроэкосистем – синантропных и синантропизированных (Миркин и др., 2003), переходя с одних на другие (Мальцев, 1962, Никитин, 1983; Ульянова, 2005), что не позволяет основывать фитосанитарное районирование территории в отношении сорных растений только на агрофитоценозах.

Отнесение видов растений к группе сорных обусловлено их приуроченностью ко вторичным местообитаниям (антропогенным и природным), и их распространение, в первую очередь, лимитируется природными факторами (Гроссгейм, 1948; Мальцев, 1962; Ульянова, 2005; Лунева, 2018а). К вопросу распространения видов сорных растений следует подходить с позиций эколого-географических закономерностей распределения как отдельных видов, так и растительности: факторы тепло- и влагообеспеченности территории служат главными факторами, определяющими распространение растений и их сообществ (Алехин и др., 1961; Толмачев, 1974). Закономерность в распространении сорных растений, повторяющая общую закономерность распространения естественной растительности, отмеченная многими авторами, объясняется ими именно природно-климатическими факторами (Мальцев, 1962; Туганаев, Миркин, 1982; Никитин, 1983; Туганаев, 1984; Ямалов и др., 2019).

Сходство между культурными и сорными растениями выражается, прежде всего, в зависимости формирования зон распространения культурных и сорных растений от воздействия основных природных факторов. Для каждого культурного растения и даже его сорта характерно наличие «агроэкологического оптимума», то есть определенной территории, характеризующейся благоприятными для его роста и развития свойствами. Исходя из этого, в качестве определяющего фактора агроэкологического районирования выдвигается возделываемое растение и его специфические требования к условиям местообитания (Писаренко, Чайка, 2014; Рыбалко, Баранова, 2018). Применительно к сорным растениям, в качестве определяющего фактора, обуславливающего фитосанитарное районирование территории, также выдвигаются уникальные требования каждого вида к условиям местообитания, которые формируют как ареал вида сорного растения, так и «зону вредоносности», представляющей собой пространство, характеризуемое условиями, оптимальными для произрастания этого вида, отличающимися эту территорию от остальной зоны произрастания вида (Афонин и др., 2020).

Агроэкологическое районирование осуществляется на трех уровнях: макро-, мезо- и микроуровне, но критерий, на основе которого выделяется каждый уровень, не представляется четким, конкретным. В одних литературных источниках указано, что агроэкологическое районирование

территории осуществляется как в масштабе всего региона (макрорайонирование), так и в масштабах области (мезо-) и хозяйства (микрорайонирование) (Жученко, 2013). В других источниках в качестве макроуровня также указывается регион (Мухамадьяров, Ашихмин, 2012), в иных – целая страна (Сельскохозяйственное районирование территории, 2020). Мезо-уровнем районирования в одних случаях указывается область (Сысоев, Мухамадьяров, 2001; Мухамадьяров, Ашихмин, 2012), в других – почвенно-климатические агрозоны (Сельскохозяйственное районирование территории, 2020). Выделение территорий на микроуровне в одном случае осуществлялось в пределах одного опытного поля (Мухамадьяров, Ашихмин, 2012; Мухамадьяров и др., 2015), а в другом случае уровнем микрорайонирования указывался севооборот (Сельскохозяйственное районирование территории, 2020).

Выделение трех уровней фитосанитарного районирования, как это существует в агроэкологическом, представляется целесообразным. Районирование на макроуровне – выделение крупномасштабных территорий с комплексами видов сорных растений, связанных с этой территорией. То, что эти комплексы в разных, особенно географически удаленных друг от друга регионах и областях, не будут полностью совпадать по видовому составу, обсуждалось в публикациях (Лунева, 2018б; Терехина, Лунева, 2018). Частичное совпадение зоны возделывания культурного растения на территории СНГ, например, картофеля (Рухович и др., 2008) и зон распространения видов сорных растений, например, щирицы назадзапрокинутой (Соколова, Будревская, 2008), мать-и-мачехи-обыкновенной (Кравченко, Будревская, 2008) или горца Бунге (Доронина, Будревская, 2008) свидетельствует о том, что в разных регионах возделывания картофеля формируются разные по видовому составу комплексы сорных растений. Осуществление мониторинга и разработка прогноза распространения сорных растений в административных областях – задача областных Россельхозцентров и НИИ сельскохозяйственного профиля. Они же призваны разрабатывать региональные стратегии защиты культурных растений от воздействия сорных, которые будут обуславливать рекомендации по применению химических средств для борьбы с сорными растениями, необходимых в данной области, для защиты возделываемых здесь культур.

Районирование на мезоуровне – выделение в пределах макрорайона территорий среднего уровня. В прошлом в каждом административном районе области имелась станция защиты растений (СТАЗР), специалистами которой осуществлялся фитосанитарный мониторинг, на основе которого формировался прогноз и разрабатывались рекомендации. Поскольку в настоящее время такая детализация мониторинга, прогноза и рекомендаций в пределах области также предписывается, главным образом, областному Россельхозцентру, то решение о том, разрабатывать ли прогноз и рекомендации для каждого административного района или для более обобщенных территорий в пределах области, имеет важное значение в условиях нехватки временного, финансового и человеческого ресурсов.

Каждая область неоднородна и подразделена на агроклиматические районы, отличающиеся друг от друга по почвенно-климатическим условиям, в том числе и Ленинградская (Журина, 2002). Это способствует

агроэкологическому районированию пахотных земель в области, базирующемуся на размещении сельскохозяйственных культур в согласовании с почвенно-климатическими условиями агроклиматических районов (Жученко, 2013). Сорные растения распространяются под влиянием основных природно-климатических факторов, определяющих границы зон их распространения – факторов тепла и влаги (Алехин и др., 1961), как на территориях масштаба регионов (Лулева, 2017), так и в пределах областей, то есть, по агроклиматическим районам (Лулева, 2016). Поэтому целесообразно осуществлять фитосанитарное районирование не по административным районам, а по агроклиматическим, тогда прогноз и рекомендации будут подходящими для нескольких административных районов, входящих в агроклиматический. Районирование на мезоуровне служит основой детализации областного прогноза, служит для понимания тенденций распространения сорных растений в пределах области и разработки общих рекомендаций для всех хозяйств в пределах одного агроклиматического района. В отдельных случаях этого бывает достаточно для защиты посевов в хозяйствах от сорных растений.

С одной стороны, агроэкосистемы (хозяйства), расположенные в сходных условиях одного агроклиматического района, представляют собой территории, подходящие для роста и развития сходных комплексов видов сорных растений. С другой стороны, видовой комплекс сорных растений каждого хозяйства формируется из исходного районного комплекса сорных растений под влиянием большого количества различных антропогенных факторов, регулируемых уровнем финансового обеспечения и технического оснащения для проведения агротехнических и защитных мероприятий, поэтому представленность видов сорных растений, связанных с данным агроклиматическим районом, в отдельных хозяйствах, расположенных в пределах этого района, может быть различной, даже в посевах одной и той же культуры (Лулева, 2019). Следовательно, специалисту по защите растений необходимо представление о микроуровне фитосанитарного районирования, характеризующем распространенность сорных растений в пределах отдельного хозяйства (агроэкосистемы).

На территории агроэкосистемы сорные растения распространяются по сеgetальным (полям севооборота), а также синантропным и синантропизированным местообитаниям (Миркин и др., 2003), которые по видовому составу сорных растений резко не отличаются (Никитин, 1983; Ульянова, 2005; Лулева, Мыслик, 2017; Лулева, 2018а). Севооборот, это смена культур по определенной схеме в пространстве (совокупность целого ряда культур, возделываемых на полях севооборота в один полевой сезон) и времени (последовательная смена культур на одном поле в течение ряда лет). На совокупности полей севооборота произрастает единый для него комплекс видов сорных растений, который реализуется на каждом поле данного севооборота в зависимости от средообразующей роли возделываемой на поле культуры (Марков, 1972) и ряда технологических и защитных мероприятий, проводимых на этом поле. Сельскохозяйственные культуры, последовательно возделываемые на территории севооборота, рассматриваются как «флуктуационные фазы агроценоза целого севооборота, связанные его инвариантными

характеристиками» (Зубков, 2000), в том числе огромным запасом вегетативных зачатков многолетних видов сорных растений и банком семян в почве.

Другими словами, севооборот можно характеризовать единым для него комплексом видов сорных растений в течение ряда лет, а поле – нет. Видовой состав, как и представленность (частота и обилие) сорных растений на отдельном поле каждый год разная (даже поле многолетних кормовых трав меняется в этом отношении через несколько лет). С переходом к точному земледелию выявилось, что единого направления защитных мероприятий на всех полях под одной культурой, даже в одном хозяйстве – не может быть. Каждое поле уникально по своим характеристикам с точки зрения микрорельефа, состава почвы, культуры предшественника, поэтому фитосанитарный мониторинг проводится на поле, прогноз краткосрочный и долгосрочный разрабатывается для поля и рекомендации по применению агротехнических и защитных мероприятий делаются для поля. Исходя из того, что районирование – это некое обобщение, то можно сделать вывод, что микроуровень фитосанитарного районирования – это не уровень поля, а уровень, по крайней мере, севооборота, и даже, более того – всей агроэкосистемы, поскольку границы севооборота не препятствуют взаимному проникновению видов сорных растений с полей севооборота на прочие антропогенные местообитания агроэкосистемы и наоборот (Лулева, Мыслик, 2017).

Все вышесказанное справедливо с позиций подхода к решению практических задач: выделению уровней фитосанитарного районирования для осуществления на каждом уровне мониторинга, формирования прогноза и выработки рекомендаций. Однако, необходим общий критерий, обуславливающий и подтверждающий выделение вышеуказанных уровней фитосанитарного районирования и связанный с объектом исследования – сорными растениями.

Как было сказано выше, для формирования прогноза и защитных мероприятий более значимо фитосанитарное районирование территории на основе распространения не одного вида, а целых комплексов видов сорных растений. Изучение формирования территориальных видовых комплексов сорных растений основано на «анализе экологических данных, при котором свойства прогнозируемого объекта рассматриваются в качестве зависимой переменной от внешних экологических факторов» (Фролов, 2019). Согласно такому подходу, видовой состав сорных растений (как и не сорных), стабильно произрастающий на определенной территории, складывается из видов, требовательности которых к факторам тепла и влаги соответствует тепло- и влагообеспеченность этой территории (Алехин и др., 1961; Толмачев, 1974; Лулева, 2017). Несмотря на ограниченность такого подхода, заслужившего название «аутэкологического редуционизма» (Гиляров, 2014; Фролов, 2019), на его основе успешно формируется региональный многолетний поисковый (Березников, 1988) прогноз распространения целого комплекса видов сорных растений на конкретной территории. С использованием эколого-географического анализа (Лулева, Федорова, 2019), базирующегося на этом подходе, научно обоснован видовой состав сорных растений для целого ряда областей РФ (Лулева, 2017). Преемственность в науке является

фундаментальной закономерностью развития научного знания (Рубанов, 2010), поэтому неудивительно, что обширный массив данных, полученных, и продолжающих поступать, на основе изучения зависимости объекта от внешних экологических факторов, стал основой разработки синэкологического подхода, при котором кроме экологических факторов, внимание уделяется взаимодействию организмов, относящихся к разным видам (Гиляров, 2014; Фролов, 2019). Действительно, достоверность результатов, получаемых при изучении соотношения видов сорных растений и их биологических групп в агрофитоценозах, связана с эколого-географическим обоснованием стабильности присутствия этих видов на данной территории.

Понятие территориальной совокупности видов лежит в основе понятия «флора» (Юрцев, Камелин, 1991). Флора отражает спектр всех растительных сообществ, которые на изучаемой территории образует выявленный в ходе изучения комплекс видов, и представляет собой многомерный сложный объект биотического уровня организации живого, состоящий из целого ряда элементов – частных совокупностей видов по отношению к полной совокупности (Камелин, 2017). Одним из таких элементов флоры любого региона является сорная флора, которая представляет собой «неполную территориальную совокупность видов растений», выделенную по одному из типологических признаков (Юрцев, Камелин, 1991) – по экологии вторичных местообитаний с нарушенными растительным и почвенным покровами. Эти виды оказываются наиболее приспособлены к быстрому заселению и выживанию в

агроэкосистемах, подвергающихся периодическим интенсивным антропогенным воздействиям в ходе хозяйственной деятельности. Обращение не просто к территориальной совокупности видов сорных растений, а к сорной флоре, как к объекту, географо-экологически привязанному к конкретной территории, имеющему структуру и характеризующемуся взаимодействием объектов разных видов, вписывается в рамки синэкологического подхода к изучению сорных растений.

Несмотря на то, что среди терминов и понятий, используемых при изучении синантропной флоры, термин «сорная флора» не был принят (Баранова и др., 2018), это понятие, применяемое к совокупности видов сорных растений определенной территории, широко используется в прикладной ботанике. Один из важных вопросов при изучении флоры: что считать наименьшей по площади территорией, совокупность видов растений на которой повторяет основные черты флоры большей по размеру территории, куда входит эта наименьшая территория и поэтому представляет собой наименьшую (элементарную) флору (Камелин, 2017). Для фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений выделение элементарной сорной флоры имеет принципиальное значение, поскольку именно наименьшая по размеру флора и лежит в основе выделения микроуровня. Таким образом, цель работы заключается в обосновании уровней фитосанитарного районирования на основе сорной флоры соподчиненных территорий.

Материалы и методы

Оригинальные данные, полученные за период с 1999 по 2015 г. в ходе полевых обследований на территории Ленинградской области (Северо-Западный регион Российской Федерации), осуществленных по методике, разработанной в ВИЗР (Лунева, 2009; Лунева, Мыслик, 2015), размещены в БД «Сорные растения во флоре России» (Лунева, Лебедева, 2012) и систематизированы для последующего анализа с помощью программы «Герболог-Инфо» (Лунева и др., 2015).

Флористические показатели отдельных комплексов сорных растений определены путем сравнения состава видов (Камелин, 2017), а также систематической структуры (Толмачев, 1974), головных частей и первых двух «триад» флористических спектров (Шмидт, 1980; Хохряков, 2000). Флористическое сходство определено с использованием коэффициента Жаккара (Jaccard, 1901). Названия и объем таксонов соответствуют таковым в сводке П.Ф. Маевского (2014) и книге Р.В. Камелина (2017).

Результаты

Границы флоры обуславливаются естественными границами территории, на которой она сформирована. Анализируемый административный выдел (Северо-Западный регион Российской Федерации) «достаточно естественен с физико-географической точки зрения» (Камелин, 2017). Поэтому, несмотря на то, что административные пределы данного региона искусственны, природные границы региона, обусловленные почвенно-климатическими характеристиками, можно считать естественными, хотя допускается выявление флор и в границах административных выделов (Толмачев, 1974; Камелин, 2017).

Флора, сформировавшаяся в однородных природных условиях Северо-Западного региона, рассматривается как флора данного региона, имеющая естественные границы. Северо-Западный регион подразделяется на области, границы между которыми определены искусственно и часто в течение времени изменялись, но природно-климатические условия областей, входящих в этот регион, сходны, поэтому флора Ленинградской области представляет собой часть флоры Северо-Западного региона. Проведено

сравнение головной части систематических спектров флоры Северо-Западного региона и флоры Ленинградской области. Поскольку на следующем этапе в сравнение была включена головная часть систематического спектра сорной флоры, то те ведущие семейства в первых двух сравниваемых флорах, виды из которых не зарегистрированы в числе сорных растений на территории Ленинградской области, показаны, но вынесены в верхнюю часть таблицы (табл. 1).

Головные части спектров как региональной, так и областной флоры включают одни и те же семейства, которые расположены в порядке убывания количества видов в одинаковой последовательности.

Сорная флора любого региона формируется в течение длительного временного периода из видов растений, для которых территория региона подходит по основным условиям, необходимым для роста и развития этих растений (Кравченко, 2000). Сорная флора, как экологический элемент областной флоры, характеризующийся привязкой к определенным условиям местообитаний, имеет как черты

Таблица 1. Головная часть систематических спектров флоры Северо-Западного региона*, флоры Ленинградской области* и сорной флоры Ленинградской области**

Флора Северо-Западного региона		Флора Ленинградской области		Сорная флора Ленинградской области	
Названия семейств	Число видов	Названия семейств	Число видов	Названия семейств	Число видов
Осоковые <i>Superaceae</i>	109	Осоковые	105		
Орхидные <i>Orchidaceae</i>	35	Орхидные	33		
Рдестовые <i>Potamogetonaceae</i>	30	Рдестовые	28		
Ивовые <i>Salicaceae</i>	20	Ивовые	19		
Сложноцветные <i>Compositae</i>	219	Сложноцветные	215	Сложноцветные	60
Злаки <i>Gramineae</i>	113	Злаки	105	Злаки	35
Лютиковые <i>Ranunculaceae</i>	113	Лютиковые	103	Бобовые	28
Розоцветные <i>Rosaceae</i>	72	Розоцветные	68	Крестоцветные	23
Гвоздичные <i>Caryophyllaceae</i>	66	Гвоздичные	59	Гвоздичные	20
Бобовые <i>Leguminosae</i>	56	Бобовые	51	Яснотковые	19
Норичниковые <i>Scrophulariaceae</i>	53	Норичниковые	49	Норичниковые	17
Крестоцветные <i>Cruciferae</i>	46	Крестоцветные	41	Зонтичные	13
Яснотковые <i>Labiatae</i>	42	Яснотковые	36	Бурачниковые	13
Гречишные <i>Polygonaceae</i>	35	Гречишные	34	Маревые	12
Ситниковые <i>Juncaceae</i>	27	Ситниковые	25	Гречишные	12
Зонтичные <i>Umbelliferae</i>	26	Зонтичные	21	Розоцветные	11
Фиалковые <i>Violaceae</i>	23	Фиалковые	22	Лютиковые	8
Бурачниковые <i>Boraginaceae</i>	20	Бурачниковые	16	Ослинниковые	7
Маревые <i>Chenopodiaceae</i>	16	Маревые	15	Ситниковые	6
Ослинниковые <i>Onagraceae</i>	13	Ослинниковые	12	Фиалковые	2

*По (Камелин, 2017), ** – собственные данные автора.

сходства с флорой области, так и отличия. Головная часть флористического спектра сорной флоры Ленинградской области отличается от головной части спектра флоры Северо-Западного региона и головной части спектра флоры Ленинградской области отсутствием в ней семейств осоковые, орхидные, рдестовые, ивовые. Но состав следующих ведущих 15 семейств спектра идентичен, различия только в последовательности семейств: лютиковые и розоцветные, занимающие первые строки головной части спектра во флоре Ленинградской области, значительно уступают свои позиции в составе сорной флоры. За счет этого в сорной флоре повышается роль таких семейств, как бобовые, крестоцветные, яснотковые, бурачниковые, зонтичные, маревые. Черты сходства позволяют считать комплекс сорных растений, произрастающих на территории Ленинградской области, составной частью флоры Ленинградской области, ее экологическим элементом, который целесообразно обозначить термином «сорная флора».

В пределах области, независимо от ее административного деления, выделяются агроклиматические районы, на основе общности природно-климатических условий неких площадей, отличающихся в то же время от соседних (Журина, 2002). Комплексы видов сорных растений, зарегистрированных в пределах каждого агроклиматического района, сходны по составу семейств, в том числе и в головной части флористических спектров, с таковым сорной флоры Ленинградской области, что позволяет считать эти видовые комплексы составной частью сорной флоры области (табл. 2).

Показатели количества видов сорных растений в комплексах отдельных агроклиматических районов иллюстрируют одну из закономерностей флористики: «увеличение площади ведет к увеличению количества видов...

при одинаковой ландшафтно-экологической емкости сравнимых территорий» (Камелин, 2017). Действительно, освоенные под сельское хозяйство территории III (Карельский перешеек) и V (юг и юго-запад области) агроклиматических районов значительно меньше, чем таковые в остальных агроклиматических районах Ленинградской области: из-за большой площади каменистой почвы в III и болотистой на юго-западе V агроклиматических районов. Будучи частью сорной флоры области, комплексы сорных растений агроклиматических районов отличаются друг от друга, о чем свидетельствуют результаты сравнения головной части флористических спектров этих комплексов (семейства в таблице расположены в порядке убывания количества родов в составе сорной флоры Ленинградской области). Состав семейств первой «триады» флористических спектров комплексов видов сорных растений практически всех агроклиматических районов идентичен с таковым сорной флоры всей Ленинградской области: по числу родов и видов в эту группу входят семейства сложноцветные, злаки и крестоцветные – вместо семейства злаков в первой «триаде» спектра IV агроклиматического района семейство бобовые. Во второй «триаде» первое место по числу и родов и видов во флорах и области, и агроклиматических районов занимает семейство гвоздичные. Следующие три семейства – зонтичные, яснотковые и бобовые – присутствуют во второй «триаде» головной части спектра сравнимых флор в разной последовательности. То, что видовые комплексы сорных растений агроклиматических районов содержат в своей структуре практически те же семейства, что входят в состав сорной флоры Ленинградской области, а также идентичны по составу головных семейственных спектров, свидетельствует о том, что это не случайные комплексы видов антропогенных местообитаний,

Таблица 2. Систематическая структура сорной флоры Ленинградской области и комплексов видов сорных растений агроклиматических районов. Ленинградская область. 1999–2015 гг. Условные обозначения: р – роды, в – виды

Сравниваемые территории	АКР II		АКР III		АКР IV		АКР V		АКР V-1		Область	
	р	в	р	в	р	в	р	в	р	в	р	в
Названия семейств	Количество родов и видов в семействе											
Сложноцветные	30	49	29	37	33	48	29	41	30	46	36	58
Злаки	16	23	12	13	6	20	15	19	16	23	22	31
Крестоцветные	14	14	11	13	13	17	13	15	14	19	15	23
Гвоздичные	9	13	11	13	8	13	8	11	9	12	12	19
Зонтичные	7	8	7	9	9	10	8	9	9	11	10	12
Яснотковые	6	12	7	9	9	14	7	10	5	12	9	16
Бурачниковые	5	6	4	4	5	7	2	3	5	5	8	10
Бобовые	8	24	7	20	16	20	6	18	6	20	7	26
Норичниковые	5	10	4	5	7	12	3	5	5	8	7	17
Гречишные	6	14	4	10	5	12	5	12	5	12	6	14
Розоцветные	4	9	2	6	5	9	4	7	3	8	5	11
Маревые	3	9	1	4	2	6	2	6	3	10	3	11
Ослинниковые	3	7	2	4	2	3	3	3	3	7	3	7
Лютиковые	2	5	2	2	1	6	2	4	1	4	3	7
Ситниковые	2	4	2	4	2	2	2	3	2	2	1	6
Хвощевые Equisetaceae	1	4	1	3	1	2	1	1	1	3	1	4
Мареновые Rubiaceae	1	4	1	4	1	5	1	4	1	7	1	7
Колокольчиковые Campanulaceae	1	3	1	2	1	3	1	2	1	3	1	4
Гераниевые Geraniaceae	2	3	1	1	2	3	2	3	2	3	2	4
Вьюнковые Convolvulaceae	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Осоковые Сурерaceae	1	2	1	1			1	1			1	3
Зверобойные Hypericaceae	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2
Молочайные Euphorbiaceae	1	2	1	2	1	2	1	1	1	2	1	2
Подорожниковые Plantaginaceae	1	2	1	2	1	3	1	2	1	3	1	4
Пасленовые Solanaceae	1	2	1	1	1	1	1	1	2	3	2	3
Крапивные Urticaceae	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Фиалковые Violaceae	1	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	2
Ворсянковые Dipsacaceae	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Дымянковые Fumariaceae	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Частуховые Alismataceae	1	1			1	1			1	1	1	1
Амарантовые Amaranthaceae	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	3
Первоцветные Primulaceae	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	1
Рогозовые Typhaceae	1	1	1	1			1	1	1	1	1	1
Валериановые Valerianaceae	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Мальвовые Malvaceae			1	1					1	3	2	4
Бальзаминовые Balsaminaceae					1	1					1	1
Маковые Papaveraceae					1	1			1	2	2	2
Повиликовые Cuscutaceae							1	1			1	1
Заразиховые Orobanchaceae							1	1			1	1
Количество видов		244		183		234		196		242		325
Количество родов	141		125		144		131		138		175	
Количество семейств		34		34		34		35		35		39

а именно сорные флоры, сформировавшиеся в отдельных агроклиматических районах.

Отличие III и V агроклиматических районов подтверждаются и самыми низкими показателями сходства сорных флор этих районов с сорной флорой области, а также с сорной флорой других агроклиматических районов (табл. 3).

Проблема выделения микроуровня фитосанитарного районирования связана с выделением флоры самого маленького размера, так называемой элементарной сорной флоры. Здесь встает вопрос о «наименьшей по площади территории, начиная с которой, мы можем говорить не

просто о пространстве, на котором растет некоторое число видов, образующих ту или иную совокупность сообществ, но об особом биологическом более сложном объекте, в формировании которого кроме аутоэкологических и биоценологических факторов участвуют и географические факторы» (Камелин, 2017). Много сделавший для изучения флоры А.И. Толмачев (1974), называя элементарные флоры конкретными, считал, что площади конкретных флор могут различаться в зависимости от зонального положения территории. До настоящего времени не решен вопрос – ограничиваются ли конкретные флоры какими-то природными рубежами или нет, поэтому флористы условились в

Таблица 3. Показатели флористического сходства состава сорной флоры области и отдельных агроклиматических районов. Ленинградская область. 1999–2015 гг. В верхней правой части таблицы – показатели K_j, в нижней левой части – показатели числа общих видов в сравниваемых множествах

	Сорная флора области	Сорные флоры агроклиматических районов				
		II	III	IV	V	V-1
Сорная флора области	-	0.69	0.41	0.65	0.49	0.65
II	184	-	0.53	0.57	0.47	0.62
III	109	101	-	0.44	0.45	0.48
IV	174	130	86	-	0.52	0.56
V	129	100	74	104	-	0.54
V-1	172	136	91	124	105	-

настоящее время считать элементарными (конкретными) флорами «только такие флоры, которые занимают однородную территорию, через которую не проходит никакой комплексный природный рубеж» (Камелин, 2017).

Однородность территории меньшей по размеру флоры, которая может быть выделена в агроклиматическом районе, обеспечивается однородностью почвенно-климатических условий агроклиматического района. В пределах территории агроклиматического района расположен ряд агроэкосистем (сельскохозяйственных предприятий), совокупная территория сельскохозяйственных угодий которых представляет собой территорию сорной флоры агроклиматического района. Поэтому меньшей по размеру, чем агроклиматический район, территорией, на которой произрастают сорные растения, целесообразно рассмотреть территорию агроэкосистемы или отдельного сельскохозяйственного предприятия. В пределах агроэкосистемы сорные растения распространяются по совокупности сеgetальных местообитаний, а также синантропным и синантропизированным (Миркин и др., 2003), которые мы, следуя В.В. Никитину (1983) и Т.Н. Ульяновой (2005) объединим под условным названием «рудеральные». Сравнение флористической структуры комплекса видов сорных растений одной из агроэкосистем (Павловская опытная станция Всероссийского института растениеводства) со структурой флоры агроклиматического района II, к которому относится территория данной агроэкосистемы, показало их значительное сходство (табл. 4).

Чем меньше площадь соподчиненных территорий (агроклиматический район, агроэкосистема, совокупности рудеральных и сеgetальных местообитаний в агроэкосистеме), тем меньшее количество таксонов характеризует произрастающие на этих территориях комплексы видов сорных растений. Однако систематические структуры сравниваемых комплексов схожи: количество семейств в сорной флоре агроклиматического района всего на 4 больше, чем в видовом комплексе агроэкосистемы, причем эти семейства и в сорной флоре агроклиматического района играют далеко не ведущую роль (осоковые, пасленовые, амарантовые, первоцветные). Состав группы ведущих семейств во флоре агроклиматического района и в комплексе видов сорных растений агроэкосистемы идентичен, кроме последнего семейства ситниковых, представленных в агроклиматическом районе 5 видами, а в комплексе видов данной агроэкосистемы не вошедшего в число 15 ведущих семейств (но оно присутствует в структуре сорной флоры данной агроэкосистемы). Вышесказанное дает основание считать комплекс видов сорных растений агроэкосистемы

составной частью сорной флоры агроклиматического района и называться сорной флорой агроэкосистемы.

Сорные растения на территории любой агроэкосистемы произрастают в составе агрофитоценозов, объединяемых (в зависимости от размеров территории агроэкосистемы) одним или несколькими севооборотами, а также биоценозов синантропных и синантропизированных местообитаний (Миркин и др., 2003). Исходя из различий двух типов местообитаний (с единой или крайне редко нарушаемыми растительным и почвенным покровами, с одной стороны, и с ежегодно нарушаемыми – с другой), объединим в первую группу синантропные и синантропизированные местообитания под условным названием «рудеральные», а во вторую группу – «сеgetальные» – объединим местообитания севооборотов, что обуславливает разделение сорной флоры агроэкосистемы на два комплекса видов сорных растений.

В структуре комплексов видов сорных растений рудеральных и сеgetальных местообитаний агроэкосистемы присутствует подавляющее большинство семейств, входящих в структуру сорной флоры агроэкосистемы и агроклиматического района (см. табл. 4). Состав головной части систематического спектра сравниваемых флор и комплексов идентичен: различия в последовательности семейств по количеству родов и видов. Это позволяет считать комплекс видов сорных растений на совокупности рудеральных местообитаний агроэкосистемы рудеральным элементом сорной флоры агроэкосистемы, а комплекс видов сорных растений сеgetальных местообитаний агроэкосистемы – сеgetальным элементом сорной флоры агроэкосистемы.

Еще меньшую соподчиненную территорию, чем территория каждого из элементов сорной флоры агроэкосистемы (сеgetального и рудерального), представляет собой территория отдельного сеgetального или рудерального местообитания. Для того, чтобы комплекс видов сорных растений отдельного местообитания можно было считать элементарной флорой, необходимым и достаточным условием выступает способность этого объекта флористического изучения «отразить основные особенности флоры, занимающей природно-ограниченную территорию, по площади большую, чем территория, на которой обитает элементарная флора» (Камелин, 2017). Выше было показано, что сеgetальный и рудеральный элементы сорной флоры агроэкосистемы отражают структуру головной части флористических спектров сорных флор природно-ограниченных территорий – агроклиматических районов, которые, в свою очередь, отражают основные черты структуры сорной флоры Ленинградской области. Если

Таблица 4. Систематическая структура сорной флоры агроклиматического района II, комплекса видов сорных растений отдельной агроэкосистемы (Павловская опытная станция Всероссийского института растениеводства) и видов сорных растений, зарегистрированных на сеgetальных и рудеральных местообитаниях в отдельной агроэкосистеме. Ленинградская область. 1999–2015 гг. Условные обозначения: р – роды, в – виды

Сравниваемые территории	Агроклиматический район II		Агроэкосистема		Рудеральные местообитания		Сеgetальные местообитания	
	р	в	р	в	р	в	р	в
Названия семейств	Количество родов и видов в семействе							
Сложноцветные	30	49	26	34	25	32	15	16
Злаки	16	23	6	10	7	8	5	8
Крестоцветные	14	14	9	9	7	7	8	8
Гвоздичные	9	13	5	7	5	6	4	5
Бобовые	8	24	6	13	6	13	1	1
Зонтичные	7	8	5	6	5	6	1	1
Гречишные	6	14	5	7	5	6	4	7
Яснотковые	6	12	5	12	4	8	5	11
Норичниковые	5	10	3	3	2	2	1	2
Маревые	3	9	1	2	1	2	1	1
Розоцветные	4	9	2	3	2	3	1	1
Ослинниковые	3	7	2	4	2	3	1	1
Бурачниковые	5	6	3	4	2	2	2	3
Лютиковые	2	5	2	4	1	3	2	3
Ситниковые	2	5	1	1			1	1
Хвощевые	1	4	1	1	1	1	1	1
Мареновые	1	4	1	2	1	2	1	1
Колокольчиковые	1	3	1	2	1	2		
Гераниевые	2	3	2	2	2	2	1	1
Вьюнковые	2	2	1	1	1	1	1	1
Осоковые	1	2						
Зверобойные	1	2	1	1	1	1		
Молочайные	1	2	1	1	1	1	1	1
Подорожниковые	1	2	1	2	1	2	1	2
Пасленовые	1	2						
Крапивные	1	2	1	1	1	1		
Фиалковые	1	2	1	1	1	1	1	1
Ворсянковые	1	1	1	1	1	1		
Дымянковые	1	1	1	1	1	1	1	1
Частуховые	1	1	1	1	1	1		
Амарантовые	1	1						
Первоцветные	1	1						
Рогозовые	1	1	1	1	1	1		
Валериановые	1	1	1	1	1	1		
Количество видов		245		138		120		78
Количество родов	141		97		90		60	
Количество семейств		34		30		29		23

флористическая структура комплекса видов сорных растений отдельного местообитания в агроэкосистеме соответствует структуре сеgetального (или рудерального) элемента сорной флоры агроэкосистемы, то этот комплекс и будет элементарной сорной флорой. Соответствующий сравнительный анализ структуры комплексов видов сорных растений отдельных рудеральных местообитаний и структуры рудерального элемента сорной флоры агроэкосистемы представлен в таблице 5.

Все флористические показатели комплекса видов сорных растений каждого отдельного рудерального местообитания сильно разнятся между собой в разных описаниях и значительно меньше аналогичных показателей рудерального элемента сорной флоры агроэкосистемы, сформированного на совокупности рудеральных местообитаний.

Например, семейство зонтичные во флористическом спектре рудерального элемента флоры входит лишь во вторую «триаду» флористического спектра наряду с семействами гречишные и гвоздичные. А в представленных видовых комплексах отдельных рудеральных местообитаний семейство зонтичные входит в первую «триаду» спектра. При этом состав ведущих семейств в комплексах сорных растений отдельных описаний включает всего 3–4 семейства, что совершенно не соответствует структуре рудерального элемента сорной флоры агроэкосистемы.

Сеgetальный элемент сорной флоры агроэкосистемы складывается из видов сорных растений, произрастающих на отдельных сеgetальных местообитаниях, сравнение видового состава которых представлено в таблице 6.

Таблица 5. Систематическая структура рудерального элемента сорной флоры агроэкосистемы (Павловская опытная станция Всероссийского института растениеводства) и комплексов видов сорных растений на отдельных рудеральных местообитаниях в агроэкосистеме. Ленинградская область. 1999–2015 гг. Условные обозначения: р – роды, в – виды

Сравниваемые территории	Совокупность рудеральных местообитаний агроэкосистемы		Описание 1 (мусорное место)		Описание 2 (мусорное место)		Описание 3 (полевая дорога)		Описание 4 (полевая дорога)	
	р	в	р	в	р	в	р	в	р	в
Названия семейств	Количество родов и видов в семействе									
Сложноцветные	25	32	9	9	11	11	8	8	7	7
Бобовые	6	13	2	3	5	8	4	6	4	6
Злаковые	7	8	4	4	2	2			2	2
Яснотковые	4	8			1	1				
Крестоцветные	7	7	2	2	2	2			1	1
Зонтичные	5	6	2	2	3	4	3	3	2	2
Гречишные	5	6	1	1	1	1				
Гвоздичные	5	6	1	1			1	1		
Норичниковые	2	2			1	1	1	1	1	1
Маревые	1	2	1	1						
Розоцветные	2	3			1	1			1	1
Ослинниковые	2	3			1	1				
Бурачниковые	2	2			1	1				
Лютиковые	1	3								
Хвощевые	1	1			1	1	1	1	1	1
Мареновые	1	2			1	1			1	1
Колокольчиковые	1	2			1	1				
Гераниевые	2	2	1	1						
Вьюнковые	1	1			1	1			1	1
Зверобойные	1	1			1	1				
Молочайные	1	1								
Подорожниковые	1	2	1	1	1	1			1	1
Крапивные	1	1			1	1				
Фиалковые	1	1								
Ворсянковые	1	1								
Дымянковые	1	1								
Частуховые	1	1								
Рогозовые	1	1								
Валериановые	1	1								
Количество видов		120		25		40		20		24
Количество родов	90		24		36		18		22	
Количество семейств		29		10		18		6		11

Все показатели комплекса видов сорных растений каждого отдельного сегетального местообитания сильно отличаются друг от друга и значительно меньше аналогичных показателей сегетального элемента сорной флоры агроэкосистемы. В состав ведущих семейств в отдельных

описаниях входит 1–5 семейств, что не соответствует структуре сегетального элемента сорной флоры агроэкосистемы. Таким образом, отдельное описание как рудерального, так и сегетального элементов сорной флоры агроэкосистемы не относится к элементарной флоре.

Обсуждение

С использованием сравнительного анализа систематической структуры и головной части флористических спектров комплексов видов сорных растений ряда соподчиненных территорий (на примере Ленинградской области) показано, что комплексы видов сорных растений области, агроклиматических районов в пределах области, агроэкосистем в пределах агроклиматических районов, представляют собой сорные флоры разного территориального

уровня, а сорная флора агроэкосистемы включает сегетальный и рудеральный элементы. Комплексы видов сорных растений, регистрируемых на отдельном поле или на отдельном рудеральном местообитании в пределах агроэкосистемы, не рассматриваются в качестве элементарной сорной флоры.

Принятие сорной флоры соподчиненных территорий разного масштаба как критерия выделения уровней

Таблица 6. Систематическая структура сегетального элемента сорной флоры агроэкосистемы (Павловская опытная станция Всероссийского института растениеводства) и комплексов видов сорных растений на отдельных сегетальных местообитаниях в агроэкосистеме. Ленинградская область. 1999–2015 гг. Условные обозначения: р – роды, в – виды

Сравниваемые территории	Совокупность сегетальных местообитаний агроэкосистемы		Описание 1 (посадка картофеля)		Описание 2 (посадка картофеля)		Описание 3 (посев овса)		Описание 4 (посев овса)	
	р	в	р	в	р	в	р	в	р	в
Названия семейств	Количество родов и видов в семействе									
Сложноцветные	15	16	6	6	5	5	3	3	4	4
Яснотковые	15	11	2	2	2	2				
Злаковые	5	8	1	1	1	1				
Крестоцветные	8	8	3	3	3	3	2	2	1	1
Гречишные	4	7	2	2	3	3	1	1	1	1
Гвоздичные	4	5	1	1	2	2	1	1		
Бурачниковые	2	3								
Лютиковые	2	3								
Норичниковые	1	2								
Маревые	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Розоцветные	1	1								
Ослинниковые	1	1								
Подорожниковые	1	2			1	1				
Ситниковые	1	1								
Зонтичные	1	1								
Бобовые	1	1								
Хвощевые	1	1	1	1	1	1				
Мареновые	1	1	1	1	1	1				
Гераниевые	1	1								
Вьюнковые	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Молочайные	1	1								
Фиалковые	1	1			1	1	1	1		
Дымянковые	1	1	1	1	1	1	1	1		
Количество видов		78		20		23		11		8
Количество родов	60		20		23		11		8	
Количество семейств		23		12		13		8		5

фитосанитарного районирования подтверждает обсужденное выше выделение макроуровня на уровне области. Действительно, виды растений сорной флоры области представляют собой объекты фитосанитарного мониторинга на макроуровне, на основе чего формируется региональный многолетний прогноз их распространения на территории области, разрабатывается стратегия борьбы с сорными растениями в масштабе области, намечаются научные исследования, направленные на изучение различий между сорными флорами разных областей, способствующие выявлению тенденций и закономерностей формирования сорных флор в разных почвенно-климатических условиях.

Виды растений сорной флоры каждого агроклиматического района – объект фитосанитарного мониторинга на мезоуровне, на основе которого осуществляется детализация общего прогноза распространения видов сорных растений, произрастающих в области, по территориям отдельных агроклиматических районов. Видовой состав сорной флоры агроклиматического района – основа для многолетнего прогноза распространения этих видов на территории всех хозяйств данного агроклиматического

района и детализации общих рекомендаций для защиты культурных растений от сорных в его пределах.

Комплекс видов растений сорной флоры отдельной агроэкосистемы – объект фитосанитарного мониторинга на микроуровне, на основе которого конкретизируется как многолетний, так и долгосрочный прогноз распространения видов сорных растений данной флоры на территории данной агроэкосистемы. Выявление видов рудерального элемента сорной флоры агроэкосистемы – основа формирования прогноза заноса видов сорных растений с территорий рудеральных местообитаний на поля и разработки превентивных мер защиты посевов от их вредного воздействия. Выявление видов сегетального элемента сорной флоры агроэкосистемы способствует формированию многолетнего и долгосрочного прогноза распространения видов сорных растений на территории севооборотов данной агроэкосистемы.

Территория агроэкосистемы – самая небольшая по площади, на которой формируется сорная флора. На более мелких территориях в пределах агроэкосистемы, к которым относятся, в том числе, и поля, комплексы видов сорных растений не соответствуют понятию флоры, что обуславливает, при выборе сорной флоры в качестве критерия

фитосанитарного районирования, фиксацию микроуровня на уровне агроэкосистемы.

Каждый уровень районирования, это уровень обобщения: территории, объектов и результатов исследования. На макроуровне это территория области, комплекс растений сорной флоры области, общие тенденции распространения этих видов на территории области. На мезоуровне это обобщение условий произрастания видов сорной флоры и результатов исследований на территории агроклиматического района. На микроуровне это вся территория агроэкосистемы, растения сорной флоры агроэкосистемы, общие тенденции распространения видов сорных растений этой флоры по сеgetальным и рудеральным местообитаниям этой агроэкосистемы. Самый нижний уровень обобщения, на котором комплекс видов сорных растений представляет собой элемент сорной флоры – общие условия, характеризующие рудеральные местообитания, как местообитания с единожды нарушенным естественным растительным и

почвенным покровом, и условия сеgetальных местообитаний, как местообитаний с регулярно нарушаемыми почвенным и растительным покровом.

Каждое отдельное местообитание в пределах агроэкосистемы, будь то обочина дороги, место свалки мусора, посев конкретной культуры, представляет собой не элемент сорной флоры, но уникальный объект по микрорельефу, составу и структуре почвы, видовому составу сорных растений, культуре-предшественнику, набору агротехнических и защитных мероприятий в каждый полевой сезон. Любые результаты исследований, полученные на поле, достоверны именно в данных условиях данного поля, поэтому, если краткосрочный прогноз распространения сорных растений можно разработать для данного поля, то долгосрочный – только для всей агроэкосистемы, с учетом как данных фитосанитарного мониторинга на сеgetальных и рудеральных местообитаниях, так и смены культур в системе севооборота.

Заключение

Таким образом, впервые обосновано выделение трех уровней фитосанитарного районирования в отношении сорных растений на основе использования четкого

критерия: соподчиненных территориальных выделов сорной флоры (табл. 7).

Таблица 7. Фитосанитарное районирование в отношении сорных растений на макро-, мезо- и микроуровне

Уровень районирования	Соподчиненные территории	Совокупность сорных растений соподчиненных территорий
МАКРО	Регион	Сорная флора региона
	Область	Сорная флора области, как часть сорной флоры региона
МЕЗО	Агроклиматические районы в пределах области	Сорная флора агроклиматического района, как часть сорной флоры области
	Агроэкосистема	Сорная флора агроэкосистемы (элементарная флора), как часть сорной флоры агроклиматического района
	Севооборот	Сеgetальный элемент сорной флоры агроэкосистемы
	Агрофитоценозы полей	Комплекс видов сорных растений агрофитоценоза поля
МИКРО	Синатропные и синантропизированные местообитания	Рудеральный элемент сорной флоры агроэкосистемы
	Фитоценозы синатропных и синантропизированных местообитаний	Комплекс видов сорных растений фитоценоза синантропного или синантропизированного местообитания.

Макроуровень фитосанитарного районирования в отношении сорных растений выделяется на основе региональной (областной) сорной флоры, а мезоуровень – на основе выделения сорной флоры агроклиматических районов. Микроуровень обусловлен территорией элементарной флоры, каковой выступает флора агроэкосистемы

с входящими в нее сеgetальным и рудеральным элементами. Видовой состав сорных растений агрофитоценоза отдельного сеgetального местообитания или фитоценоза отдельного рудерального местообитания не представляет собой флору и не может обуславливать выделение уровня фитосанитарного районирования.

Библиографический список (References)

Алехин ВВ, Кудряшов ЛВ, Говорухин ВС (1961) География растений с основами ботаники. М.: Учпедгиз. 532 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> (03.03.2020)
 Баранова ОГ, Щербачев АВ, Сенатор СА, Панасенко НН, Сагалаев ВА, Саксонов СВ (2018) Основные термины и понятия, используемые при изучении чужеродной и синантропной флоры. *Фиторазнообразие Восточной Европы* 12(4):4–22. <http://doi.org/10.24411/2072-8816-2018-10031>
 Березников ГА (1988) Прогнозирование засоренности полей для целей планирования и организации борьбы с сорняками. Практические рекомендации. Воронеж: 28 с.
 Гиляров АМ (2014) Методологические проблемы современной экологии. Смена ведущих концепций. *Русский орнитологический журнал* 23(1036):2523–2535

Гричанов ИЯ, Овсянникова ЕИ (2013) Опыт фитосанитарного районирования России и соседних стран по комплексу вредителей плодовых культур с использованием программы axiovision. *Плодоводство и виноградарство юга России* 22(4):65–80
 Гричанов ИЯ, Овсянникова ЕИ (2015) Зоны фитосанитарного риска для выращивания картофеля на территории России и соседних стран *АГРО XXI* 1(3):16–18
 Гричанов ИЯ, Овсянникова ЕИ, Саулич МИ (2018) Карты распространения и зон вредоносности вредителей зерновых культур. Санкт-Петербург: ВИЗР. 85 с. (Приложение к журналу «*Вестник защиты растений*», №27)
 Гроссгейм АА (1948) Растительный покров Кавказа. М.: МОИП. 267 с.
 Доронина АЮ, Будревская ИА. (2008) *Persicaria bungeana*. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные

- растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Persicaria_bungeana/map/index.html (03.03.2020)
- Журина ЛЛ (2002). Методические указания по составлению агроклиматической характеристики хозяйства (района) для студентов агрономической специальности (Ленинградская область). СПб: СПбГАУ. 20 с.
- Жученко АА (2013) Агроэкологическое макро-, мезо- и микро-районирование сельскохозяйственной территории. *Экономика сельскохозяйственных и перерабатывающих предприятий* 7: 9–15
- Зубков АФ (2000) Агробиоценология. (Лекционный курс). СПб: ИЦЗР. 208 с.
- Камелин РВ (2017) Флора Севера европейской России (в сравнении с близлежащими территориями): учебное пособие. СПб: ВВМ. 241 с.
- Кравченко ОЕ (2000) Адвентивные растения агроландшафтов Ленинградской области и их сеgetальный потенциал. *Автореферат дисс. ... кандидата биологических наук* СПб. 12 с.
- Кравченко ОЕ, Будревская ИА. (2008) Tussilago farfara. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Tussilago_farfara/map/index.html (03.03.2020)
- Лунева НН (2009) Технологичные методы учета и мониторинга сорных растений в агроэкосистемах. В кн.: Гричанов ИЯ (ред.) Высокопроизводительные и высокоточные технологии и методы фитосанитарного мониторинга. СПб: ВИЗР. 39–56
- Лунева НН (2016) Особенности распространенности сорных растений в агроценозах агроклиматических районов Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 4 (90): 76–81
- Лунева НН (2017) Эколого-географический анализ и моделирование для прогнозирования распространения видов сорных растений. Изучение адвентивной и синантропной флор России и стран ближнего зарубежья: итоги, проблемы, перспективы. Материалы V международной научной конференции 76–80
- Лунева НН (2018а) 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 (2018б) Виды сорных растений в региональных сеgetальных флорах на примере Ленинградской и Липецкой областей. Биологический вид в структурно-функциональной иерархии Биосферы. Материалы XV Международной научно-практической экологической конференции. 100–104.
- Лунева НН (2019) Динамика видового состава сорных растений на территории Ленинградской области на макро-, мезо- и микроуровнях. Научное обеспечение развития АПК в условиях импортозамещения. Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 115-летию Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. 39–45.
- Лунева НН, Лебедева ЕГ (2012) Методическое пособие по работе с базой данных «Сорные растения во флоре России». В кн.: Гричанов ИЯ (ред.) Методы фитосанитарного мониторинга и прогноза. СПб.: ВИЗР. 98–116.
- Лунева НН, Мысник ЕН (2015) Методические рекомендации по изучению распространения видов сорных растений. В кн.: Современные методики герботологических исследований. СПб.: ВИЗР. 47–67.
- Лунева НН, Мысник ЕН (2016) Модель видового состава сорняков Северо-Запада РФ. *Картофель и овощи* 9:32–35.
- Лунева НН, Мысник ЕН (2017) Сорные растения на сеgetальных и рудеральных местообитаниях на территории Ленинградской области. Сорные растения в изменяющемся мире: актуальные вопросы изучения разнообразия, происхождения, эволюции. Тезисы докладов Всероссийской научной конференции с международным участием. 83–84.
- Лунева НН, Мысник ЕН, Лебедева ЕГ (2015) Методические рекомендации по работе с программой «Герботолог-Инфо». В кн.: Современные методики герботологических исследований. СПб.: ВИЗР. 4–46.
- Лунева НН, Надточий ИН, Привезенцева СГ, Кулешова ЯА, Сурова ГА (2010) Засоренность сельскохозяйственных полей в Ивановской области. *Вестник защиты растений* 1: 15–26.
- Лунева НН, Соколова ТД, Надточий ИН (2014) Сорный компонент агрофитоценоза филиала «Тосненская опытная станция ВИЗР» как фон экспериментальных исследований. *Вестник защиты растений* 4; 56–59.
- Лунева НН, Соколова ТД, Надточий ИН, Навицкене ГФ, Филиппова ЕВ (2007) Оценка засоренности полей сельскохозяйственных культур в Новгородской области. *Вестник защиты растений* 3:34–45.
- Лунева НН, Соколова ТД, Надточий ИН, Степанов ГГ (2009) Засоренность полей в Псковской области. *Вестник защиты растений* 1:16–25.
- Лунева НН, Федорова ЮА (2019) Фитосанитарное районирование сорных растений на макроуровне на примере Северо-Западного региона России. *Вестник защиты растений* 2(100):15–23 [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-15-23](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-15-23)
- Маевский ПФ (2014) Флора средней полосы европейской части России. М.: Товарищество научных изданий КМК. 635 с.
- Мальцев АИ (1962) Сорная растительность СССР и меры борьбы с ней. М.; Л.: Сельхозгиз. 271 с.
- Марков МВ (1972) Агрофитоценология – наука о полевых растительных сообществах. Казань: Изд-во Казанского гос. ун-та. 272 с.
- Миркин БМ, Наумова ЛГ, Хазиахметов РМ (2003) О роли биологического разнообразия в повышении адаптивности сельскохозяйственных экосистем. *Сельскохозяйственная биология* 5:83–92
- Мухамадьяров ФФ, Ашихмин ВП (2012) Агроэкологическое районирование территории Северо-Востока европейской части России для размещения полей озимой ржи. *Достижения науки и техники АПК* 6:51–54.
- Мухамадьяров ФФ, Корибицын СЛ, Рубцова НЕ (2015) Агроэкологическое районирование сельскохозяйственных территорий на микроуровне. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока* 3(46):1–8
- Никитин ВВ (1983) Сорные растения флоры СССР. Л.: Наука. 454 с.
- Павлюшин ВА (2011) Проблемы фитосанитарного оздоровления агроэкосистем. *Вестник защиты растений* 2:3–9
- Писаренко ПВ, Чайка ТА (2014) Агроэкологическое районирование в органическом сельском хозяйстве Украины. *Известия Великолукской ГСХА* 1:47–56
- Рубанов ВГ (2010) К вопросу о некоторых типах научной преемственности. *Известия Томского политехнического университета* 316(6):52–55
- Рыбалко ЕА, Баранова НВ (2018) Агроэкологическое районирование крымского полуострова для выращивания винограда. *Системы контроля окружающей среды. Научно-технический журнал* 1(31): 90–94 <http://DOI:10.33075/2220-5861-2018-1-90-94>
- Рухович ДИ, Королева ИЕ, Вильчевская ЕВ. (2008) Solanum tuberosum. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Solanum_tuberosum_K/map/index.html (03.03.2020)
- Сельскохозяйственное районирование территории. Агроархив. Сельскохозяйственные материалы. <http://agro-archive.ru/adaptivnoe-rastenievodstvo/2435-selskokozyaystvennoe-rayonirovanie-territorii.html> (03.03.2020)
- Соколова ТД, Будревская ИА. (2008) Amaranthus retroflexus. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Amaranthus_retroflexus/map/index.html (03.03.2020)

- Сысуев ВА, Мухамадьяров ФФ (2001) Методы повышения агробиоэнергетической эффективности растениеводства. Киров: НИИСХ Северо-Востока. 216 с.
- Терехина ТА, Лулева НН (2018) Распространение сорных растений в регионах (на примере Алтайского края и Ленинградской области). Экология и география растений и растительных сообществ. Материалы IV Международной научной конференции. 935–938
- Толмачев АИ (1974) Введение в географию растений. Л.: ЛГУ. 244 с.
- Туганаев ВВ (1984) Агрофитоценозы современного земледелия и их история. М.: Наука. 88 с.
- Туганаев ВВ, Миркин БМ (1982) О некоторых спорных вопросах агрофитоценологии. *Бюллетень Московского общества испытателей природы Отделение биология* 87(1):85–97
- Ульянова ТН (2005) Сорные растения во флоре России и сопредельных государств. Барнаул: Изд-во «Азбука». 297 с.
- Филиппова ЕВ (2012) Анализ флористического сходства агрофитоценозов посевов сельскохозяйственных культур в Ленинградской области. *Вестник защиты растений* 1:53–55
- Филиппова ЕВ (2012а) Видовой состав и численность сорных растений в агроценозах полевых культур Северо-Западного региона РФ. *Автореф. дисс. ... к.б.н.* СПб. 23 с.
- Фролов АН (2019) Закономерности динамики численности вредителей и фитосанитарный прогноз. *Вестник защиты растений* 3(101): 4–33 [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-4-33](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-4-33)
- Хохряков АП (2000) Таксономические спектры и их роль в сравнительной флористике. *Ботанический журнал* 85(5):1–11
- Шмидт ВМ (1980) Статистические методы в сравнительной флористике. Л.: Наука. 176 с.
- Юрцев БА, Камелин РВ (1991) Основные понятия и термины флористики. Пермь: Пермский университет. 80 с.
- Ямалов СМ, Лебедева МВ, Лулева НН, Хасанова ГР, Шигапов ЗХ (2019) Сравнительная характеристика факторов организации сеgetальных сообществ Ленинградской области и Республики Башкортостан. *Самарский научный вестник* 8(28):92–98
- Jaccard P (1901) Distribution de la flore alpine dans le Basin de Dranset dans quelques regions voisines. *Bull Soc Vaud Sci Natur* 37(140):41–272.

Translation of Russian References

- [Agricultural zoning of the territory. Agro archive. Agricultural materials]. URL: <http://agro-archive.ru/adaptivnoe-rastenievodstvo/2435-selskohozyaystvennoe-rayonirovanie-territorii.html> (03.03.2020) (In Russian)
- Alekhin VV, Kudryashov LV, Govoruhin VS (1961) *Geografiya rasteniy s osnovami botaniki* [Geography of plants with the basics of botany]. Moscow: Uchpedgiz. 532 p. (In Russian)
- Afonin AN, Grin SL, Dzubyenko NI, Frolov AN (eds.) (2008) [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. <http://www.agroatlas.ru> (03.03.2020) (In Russian)
- Baranova OG, Shcherbakov AV, Senator SA, Panasenko NN, Sagalaev VA, Saxonov SV (2018) [Basic terms and concepts used in the study of alien and synanthropic flora]. *Fitorasnoobraznye Vostochnoy Evropy* 12(4):4–22 (In Russian) <https://doi.org/10.24411/2072-8816-2018-10031>
- Bereznikov GA (1988) *Prognozirovaniye zasorennosti poley dlya tseley planirovaniya b organizatsii borby s sornyakami* [Forecasting of field weeds for the purposes of planning and organizing weed control. Practical guidelines]. Voronezh: 28 p. (In Russian)
- Doronina AYu, Budrevskaya IA. (2008) *Persicaria bungeana. Agroekologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski znachimye rasteniya, ich vrediteli, bolezni i sornye rasteniya* [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Persicaria_bungeana/map/index.html (18/06/2020)
- Filippova EV (2012) Analysis of floristic similarity of agrophytocenoses of agricultural crops in the Leningrad region. *Vestnik zashchity rasteniy* 1:53–55. (In Russian)
- Filippova EV (2012a) *Vidovoy sostav i chislennost sornykh rasteniy v agrotsenozach polevykh kultur Severo-Zapadnogo regoina RF* [Species composition and number of weeds in agroecoceneses of field crops in the North-Western region of the Russian Federation]. *Abst. Dr. Biol. Thesis*. St. Petersburg. 23 p. (In Russian)
- Frolov AN (2019) [Patterns of population dynamics of pests and pest prediction]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3(101): 4–33 [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3\(101\)-4-33](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-3(101)-4-33) (In Russian)
- Gilyarov AM (2014) [Methodological problems of modern ecology. The change of major concepts]. *Russkiy ornitologicheskiy zhurnal* 23(1036):2523–2535 (In Russian)
- Grichanov IYa, Ovsyannikova EI (2013) [Experience in phytosanitary zoning of Russia and neighboring countries for a complex of fruit crop pests using the axiovision program]. *Plodovodstvo i vinogradarstvo yuga Rossii* 22(4):65–80 (In Russian)
- Grichanov IYa, Ovsyannikova EI (2015) [Phytosanitary risk areas for the cultivation of potatoes on the territory of Russia and neighboring countries]. *AGRO XXI* 1(3):16–18 (In Russian)
- Grichanov IYa, Ovsyannikova EI, Saulich MI (2018) *Karty rasprostraneniya i zon vredonosnosti vreditel'nykh zernovykh kultur* [Maps of distribution and zones of harmfulness of pests of grain crops]. St. Petersburg: Vserossiyskiy institut zashchity rasteniy. 85 p. (Appendix to the journal «*Vestnik zashchity rasteniy*», №27) (In Russian)
- Grossheim AA (1948) *Rastitelnyy pokrov Kavkaza* [Vegetation cover of the Caucasus]. Moscow: Moskovskoye obshchestvo ispytateley prirody. 265 p. (In Russian)
- Kamelin RV (2017) *Flora Severa yevropeyskoy Rossii (v sravnenii c blizlezhashchimi territoriyami): uchebnoe posobie* [Flora of the North of European Russia (in comparison with nearby territories): Textbook]. St. Petersburg: VVM. 241 p. (In Russian)
- Khokhryakov AP (2000) [Taxonomic spectra and their role in comparative Floristics]. *Botanicheskiy zhurnal* 85(5):1–11 (In Russian)
- Kravchenko OE (2000) *Adventivnyye rasteniya agrolandshaftov Leningradskoy oblasti i ich segetalnyy potentsial* [Adventive plants of agricultural landscapes of the Leningrad region and their segetal potential]. *Abstr. PhD. Biol. Thesis*. Saint Petersburg. 12 p. (In Russian)
- Kravchenko OE, Budrevskaya IA (2008) *Tussilago farfara. Agroekologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski znachimye rasteniya, ich vrediteli, bolezni i sornye rasteniya* Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Tussilago_farfara/map/index.html (18.06.2020)
- Luneva NN (2009) [Technological methods of accounting and monitoring of weeds in agroecosystems]. In.: Grichanov IYa (ed) *Vysokoproizvoditelnye i vysokotokhnnye tekhnologii i metody fitisaniyarnogo monitoringa* [High-Performance and high-precision technologies and methods of phytosanitary monitoring]. St. Petersburg: VIZR. 39–56 (In Russian)
- Luneva NN (2016) [Features of the prevalence of weeds in agroecoceneses of agro-climatic regions of the Leningrad region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4 (90): 76–81 (In Russian)
- Luneva NN (2017) [Ecological and geographical analysis and modeling for predicting the distribution of weed species]. *Izuchenie adventivnoy i sinsntripnoy flor Rossii i stran blizhnego zarubezhya: itogi, problem, perspektivy. Materialy pyatoy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii* [Study of adventitious and synanthropic flora in Russia and neighboring countries: results, problems, and

- prospects. Materials of the V international scientific conference]. 76–80. (In Russian)
- Luneva NN (2018a) [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 (2018b) [Species of weeds in regional segetal floras on the example of the Leningrad and Lipetsk regions]. *Biologicheskii vid v strukturno-funktionalnoy ierarkhii Biosfery. Materialy pyatnadsatoy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy ekologicheskoy konferentsii* [A biological species in the structural and functional hierarchy of the Biosphere. Materials of the XV International scientific and practical environmental conference]. 100–104 (In Russian)
- Luneva NN (2019) [Dynamics of weed species composition on the territory of the Leningrad region at macro, meso, and micro levels]. *Nauchnoe obespechenie razvitiya APK v usloviyakh importozameshcheniya. Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy stopyatnadsatiletiyu Sanrt-Peterburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* [Scientific support for the development of agriculture in the context of import substitution. Materials of the international scientific and practical conference dedicated to the 115th anniversary of the St. Petersburg state agrarian University]. 39–45 (In Russian)
- Luneva NN, Fedorova Yu (2019) [Phytosanitary zoning of weeds at the macro level on the example of the North-Western region of Russia]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2(100):15–23 [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2\(100\)-15-23](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-2(100)-15-23) (In Russian)
- Luneva NN, Lebedeva EG (2012) [Methodical manual on working with the database “Weeds in the flora of Russia”]. In: Grichanov IYa (ed) *Metody fitosanitarnogo monitoring i prognoza* [Methods of phytosanitary monitoring and forecasting]. St. Petersburg: VIZR. 98–116 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2015) [Methodological recommendations for studying the distribution of weed species]. In: *Sovremennye metodiki gerbologicheskikh issledovaniy* [Modern methods of herbological research]. St. Petersburg: VIZR. 47–67 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2016) [Model of weed species composition in the North-West of the Russian Federation]. *Kartofel i ovoshchi* 9:32–35 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2017) [Weeds in segetal and ruderal habitats in the Leningrad region]. *Sornye rasteniya v izmenyayushchemsya mire: artualnye voprosy izucheniya raznoobraziya, proischozhdeniya, evolutsii. Tezisy dokladov Vserossiskoy nauchnoy konferentsii s meshchdunrodnyim uchastiem* [Weeds in a changing world: current issues in the study of diversity, origin, and evolution. Abstracts of the all-Russian scientific conference with international participation]. 83–84 (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN, Lebedeva EG (2015) [Guidelines for working with the Herbiologist-info program]. In: *Sovremennye metodiki gerbologicheskikh issledovaniy* [Modern methods of herbological research]. St. Petersburg: VIZR. 4–46 (In Russian)
- Luneva NN, Nadtochiy IN, Privezentseva SG, Kuleshova YaA, Surova GA (2010) [Contamination of agricultural crops in the Ivanovo region]. *Vestnik zashchity rasteniy* 1: 15–26 (In Russian)
- Luneva NN, Sokolova TD, Nadtochiy IN (2014) [Weedy component of agrophytocenosis branch “Tosno experimental station of VIZR” as the background of experimental studies]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4: 56–59 (In Russian)
- Luneva NN, Sokolova TD, Nadtochiy IN, Navitskene GF, Filippova EV (2007) [Assessment of the contamination of agricultural 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)
- Mayevski PF (2014) *Flora sredney evropeyskoy chasti Rossii* [Flora of the middle zone of the European part of Russia]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK. 635 p. (In Russian)
- Maltsev AI (1962) *Sornaya rastitelnost SSSR i mery borby s ney* [Weeds of the USSR and measures to combat it]. Moscow, Leningrad: Selkhozgiz. 271 p. (In Russian)
- Markov MV (1972) *Agrofitotsenologiya – nauka o polevykh rastitelnykh soobshchestvakh* [Agrobiotecnologia – science field plant communities]. Kazan: Kazanskiy gosudarstvennyy universitet. 272 p. (In Russian)
- Mirkin BM, Naumova LG, Khaziakhmetov RM (2003) [On the role of biological diversity in increasing the adaptability of agricultural ecosystems]. *Selskokhozyaystvennaya biologiya* 5:83–92 (In Russian)
- Mukhamadiarov FF, Ashikhmin VP (2012) [Agroecological zoning of the territory of the North-East of the European part of Russia for placement of winter rye crops]. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK* 6:51–54. (In Russian)
- Mukhamadiarov FF, Korobitsyn SL, Rubtsova NE (2015) [Agroecological zoning of agricultural areas at the micro level]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* 3(46):1–8 (In Russian)
- Nikitin VV (1983) *Sornye rasteniya flory SSSR* [Weeds of the USSR flora]. Leningrad: Nauka. 454 p. (In Russian)
- Pavlyushin VA (2011) [Problems of phytosanitary improvement of agroecosystems]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2:3–9 (In Russian)
- Pisarenko PV, Chaika TA (2014) [Agroecological zoning in organic agriculture of Ukraine]. *Izvestiya Velikolukskoy Gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii* 1:47–56 (In Russian)
- Rubanov VG (2010) [On the question of certain types of scientific continuity]. *Izvestiya Tomskogo politekhnicheskogo universiteta* 316(6):52–55 (In Russian)
- Rukhovich DI, Koroleva IE, Vilchevskaya EV. (2008) *Solanum tuberosum. Agroekologicheskii atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski znachimye rasteniya, ich vrediteli, bolezni i sornye rasteniya* [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/ru/content/cultural/Solanum_tuberosum_K/map/index.html (18.06.2020)
- Rybalko EA, Baranova NV (2018) [Agroecological zoning of the Crimean Peninsula for growing grapes]. *Sistemy kontrolya okruzhayushchey sredy. Nauchno-tekhnicheskii zhurnal* 1(31): 90–94 <http://DOI: 10.33075/2220-5861-2018-1-90-94> (In Russian)
- Schmidt VM (1980) *Statisticheskiye metody v sravnitelnoy floristike* [Statistical methods in comparative floristry]. Leningrad: Nauka. 176 p. (In Russian)
- Sokolova TD, Budrevskaya IA. (2008) *Amaranthus retroflexus. Agroekologicheskii atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski znachimye rasteniya, ich vrediteli, bolezni i sornye rasteniya* [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Amaranthus_retroflexus/map/index.html (18.06.2020)
- Sysuev VA, Mukhamadyarov FF (2001) *Metody povysheniya agrobiologicheskoy effektivnosti rastenievodstva* [Agrobiodiversity methods of increasing the efficiency of crop production]. Kirov: Nauchno-issledovatel'skiy institut selskogo khozyaystva Severo-Vostoka. 216 p. (In Russian)
- Terekhina TA, Luneva NN (2018) [Distribution of weeds in regions (on the example of the Altai territory and the Leningrad region)]. *Ekologiya i geografiya rasteniy I rastitelnykh soobshchestv: Materialy chetvertoy meshdunarodnoy nauchnoy konferentsii* [Ecology and geography of plants and plant communities. Materials of the IV International scientific conference]. 935–938 (In Russian)
- Tolmachev AI (1974) *Vvedenie v geografiyu rasteniy* [An introduction to the geography of plants]. Leningrad: Leningradskiy gosudarstvennyy universitet. 244 p. (In Russian)
- Tuganaev VV (1984) *Agrofitotsenozy sovremennogo zemledeliya i ich istoriya* [Agrophytocenoses of modern agriculture and their history]. Moscow: Nauka. 88 p. (In Russian)

- Tuganaev VV, Mirkin BM (1982) [On some controversial issues of agrobiotechnology]. *Byulleten Moskovskogo obshchestva ispytateley prirody Otdeleniye biologiya* 87(1):85–97 (In Russian)
- Ulyanova TN (2005) *Sornye rasteniya vo flore Rossii i sopredelnykh gosudarstv* [Weeds in the flora of Russia and neighboring countries]. Barnaul: Azbuka. 297 p. (In Russian)
- Yamalov SM, Lebedeva MV, Luneva NN, Khasanova GR Shigapov SKh (2019) [Comparative characteristics of factors of organization of segetal communities of Leningrad region and the Republic of Bashkortostan]. *Samarskiy nauchnyy vestnik* 8(28):92–98 (In Russian)
- Yurtsev BA, Kamelin RV (1991) *Osnovnye ponyatiya i terminy floristiki* [Basic concepts and terms of Floristics]. Perm: Perm University. 80 p. (In Russian)
- Zhuchenko AA (2013) [Agroecological macro-, meso - and micro-zoning of agricultural territory]. *Ekonomika selskokhozyaystvennykh i pererabatyvayushchikh predpriyatii* 7:9–15 (In Russian)
- Zhurina LL (2002). *Metodicheskiye ukazaniya po sostavleniyu agroklimaticheskoy kharakteristiki khozyaistva (rayona) dlya studentov agronomicheskikh specialnostey (Leningradskaya oblast)* [Guidelines for the preparation of agro-climatic characteristics of the economy (district) for students of agronomic specialties (Leningrad region)]. St. Petersburg: SPbGAU. 20 p. (In Russian)
- Zubkov AF (2000) *Agrobiologiya. Lektsionnyy kurs*. [Agrobiocenology. (Lecture course)]. St. Petersburg, Pushkin: ICZR. 208 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(2), p. 119–133

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13406>

Full text article

ALLOCATION OF LEVELS OF PHYTOSANITARY ZONING OF THE TERRITORY CONCERNING WEEDS USING LENINGRAD REGION AS AN EXAMPLE

N.N. Luneva

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

e-mail: natalja.luneva2010@yandex.ru

Cultural and weed plants are similar in their distribution governed by natural climatic factors. However, the distribution of weed species is not correlated to the zones of cultivation of cultured plants, and assignment of agricultural zones cannot serve as the basis for phytosanitary zoning of the territory in relation to weeds. The regional pool of plant species associated with secondary habitats is the basis of the regional weed flora. These species are most adapted to rapid settlement and survival in agroecosystems that are subject to periodic intense anthropogenic impacts during economic activity. The weed flora of the region is an object of study and the basis for allocating the macro-level of phytosanitary zoning of the territory in relation to weeds. It is conditioned primarily by climatic features and corresponds administratively to regions. The basis for selecting the meso-level is the weed flora of agro-climatic regions (differing in soil and climate conditions), and the weed flora of the agroecosystem is the basis for selecting the micro-level. The weed flora is referred to as an object that is linked to a specific territory in terms of geography and ecology, with its specific a structure and interactions with objects of different types (being not just a territorial complex of weed species). This referral fits into the framework of the synecological approach to the study of weeds.

Keywords: macro-level, meso-level, micro-level, weed flora, elementary flora, Leningrad region

Received: 19.11.2019

Accepted: 26.06.2020

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13408>

Полнотекстовая статья

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ЛАТУКА КОМПАСНОГО *LACTUCA SERRIOLA*, ЛАТУКА СИБИРСКОГО *LACTUCA SIBIRICA* И ЛАТУКА ТАТАРСКОГО *LACTUCA TATARICA* (COMPOSITAE) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

Н.Н. Лулева*¹, Ю.А. Федорова²

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

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

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

По материалам многочисленных научных публикаций, находящихся в открытом доступе, были усовершенствованы карты распространения трех видов сорных растений – латука компасного *Lactuca serriola*, латука сибирского *Lactuca sibirica* и латука татарского *Lactuca tatarica* (сем. Сложноцветные Compositae) на территории России. За основу были взяты карты из интерактивного ресурса «Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения», созданные двенадцать лет назад. Новые данные о распространении этих видов, а также появившиеся в последнее время в открытом доступе на веб-ресурсах публикации прошлых лет, позволили выполнить ревизию сведений о зонах

распространения этих видов на территории нашей страны. Исправления и дополнения были внесены на основе анализа публикационных сведений об их распространении в отдельных областях и регионах, поэтому новые карты являются более актуальными и подробными. Данные научных публикаций о частоте встречаемости вида в отдельной области послужили для объединения территорий с показателями встречаемости «очень часто», «обыкновенно», «нередко» в одну территорию с характеристикой встречаемости «часто», а также объединения территорий с показателями встречаемости «очень редко», «нечасто», «спорадически» – в одну территорию с показателем встречаемости «редко». Зона вредности определена как территория, где вид встречается часто. Показано, что у прибрежно-опушечного вида латука сибирского, изредка заходящего на сеgetальные и рудеральные местообитания, отсутствует зона вредности, а зона распространения подразделяется на зоны частой и редкой встречаемости вида.

Ключевые слова: сорное растение, латук компасный, латук татарский, латук сибирский, распространение, карта, Россия

Поступила в редакцию: 30.03.2020

Принята к печати: 14.05.2020

Введение

Сорные растения оказывают влияние на сельское хозяйство в разных масштабах: как на уровне фермерских хозяйств, так и крупных сельскохозяйственных производителей, как на уровне поля, так и региона. Сорные растения также влияют на местные растительные сообщества и биоразнообразие в целом. Борьба с ними может проходить в виде предотвращения вторжения или контроля распространения видов. Накопленные данные о нахождении видов сорных растений с помощью современных геоинформационных методов могут быть представлены в виде карт (Krähmer et al., 2020). Хотя картирование распространения сорных растений обычно не является частью мониторинга, оно может использоваться для иллюстрирования значительных изменений во времени (Auld, 2009). Подробно изучено распространение видов сорных растений в посевах различных культур на территории стран Европы. Осуществлено картирование распространения не только наиболее часто встречающихся в агрофитоценозах разных культур видов сорных растений, но также вторых и третьих по частоте встречаемости видов (Krähmer, 2016)

Изучение распространения видов сорных растений также играет важную роль в фитосанитарном районировании территории страны, поскольку информация о произрастании комплексов видов сорных растений на определенной территории является основой формирования многолетнего регионального прогноза распространения этих видов в агроэкосистемах данной территории и, следовательно, разработки мер и средств их контроля. В связи с этим актуально и картирование распространения видов сорных растений на территории РФ.

Осуществленный анализ частоты встречаемости одних и тех же видов в географически отдаленных регионах вызвал необходимость детализации зон основного распространения видов. Например, сравнение частоты встречаемости одних и тех же видов сорных растений в посевах зерновых культур в Ленинградской области (Северо-Западный регион) и Липецкой (Центрально-Черноземный регион) показало, что встречаемость (%) следующих видов выше в Ленинградской области (сумма активных температур выше + 5 °С 1949 °С, ГТК 1.78), чем в Липецкой (сумма активных температур выше + 5 °С 2569 °С; ГТК 1.22): марь белая *Chenopodium album* L – 72.58 в Ленинградской и 42.05 в Липецкой; смолевка обыкновенная *Silene vulgaris* (Moench) Garcke – 25.81 в Ленинградской и 2.27 в Липецкой; горец щавелелистный *Persicaria lapathifolia* (L.) S.F.

Gray – 33.87 и 3.41; хвощ полевой *Equisetum arvense* L. – 11.29 и 6.82 соответственно. В то же время показатели частоты встречаемости других видов оказались выше в Липецкой области, чем в Ленинградской: василек синий *Centaurea cyanus* L. – 1.61 и 6.82; смолевка белая *Silene pratensis* (Rafn) Godr. – 1.61 и 28.41; подмаренник цепкий *Galium aparine* L. – 22.58 и 43.18; вьюнок полевой *Convolvulus arvensis* L. – 9.68 и 80.68 соответственно (Лулева, 2018а).

В данном анализе учитывалось только присутствие вида сорного растения на поле, без учета его обилия, то есть, без учета действия возможно примененных мер контроля сорных растений. Поскольку система защитных мероприятий направлена не на полное уничтожение видов сорных растений на поле, а только на снижение их численности ниже пороговой, присутствие вида на поле в конкретном регионе обусловлено в большей мере природными факторами, нежели антропогенными. Важнейшими из природных факторов, формирующих ареалы видов растений, являются факторы тепла и влаги (Алехин и др., 1961). Исходя из вышеприведенных данных, вырисовывается научная задача выявления обусловленности частоты встречаемости видов сорных растений в разных частях ареалов разными уровнями тепло- и влагообеспеченности разных территорий (показателями гидротермических коэффициентов). Одним из вариантов этого было выделение зон вредности видов сорных растений на картах в «Агроатласе» (Афонин и др., 2008) – это зоны оптимума видов. Наш подход предлагает подразделение всей зоны встречаемости каждого вида сорного растения на зоны, где он встречается часто и где – редко и сопоставление гидротермических показателей этих зон. Поскольку сорное растение – это дикорастущее растение на вторичных местообитаниях с нарушенным естественным растительным покровом (Лулева, 2018б), то показатели его встречаемости в каждой области логично заимствовать из ботанической региональной литературы – «Флор» и «Определителей». Таким образом в картировании распространения видов сорных растений на территории РФ формируется новое направление, характеризующееся детализацией зоны распространения отдельного вида на зоны разного уровня встречаемости.

Целью данного исследования явилась ревизия распространения на территории России трех видов из рода Латук *Lactuca* L., встречающихся на сеgetальных и рудеральных

местообитаниях – латука татарского *Lactuca tatarica* (L.) С.А. Меу, латука компасного *Lactuca serriola* L. и латука сибирского *Lactuca sibirica* (L.) Benth. ex Maxim. (сем. Сложноцветные Compositae Giseke) – и составление новых карт с подразделением всей зоны распространения на зоны разной встречаемости. В настоящее время известны карты распространения этих видов в мировом масштабе (Hulten, Fries, 1986).

Карты зон распространения этих видов на территории СНГ, представленные в интерактивном ресурсе

Материалы и методика

За основу были взяты карты распространения трех видов латуков (Афонин и др., 2008), а также карта России с нанесенными границами всех административных областей. Для выявления присутствия каждого вида на территории отдельной области и показателей частоты встречаемости были использованы материалы научных публикаций, перечисленных в разделе «Результаты». Не во всех использованных литературных источниках авторы указывали шкалы, по которым оценивалась встречаемость видов на территории, указанной во «Флоре» или «Определителе». Обычно для оценки встречаемости вида используется следующая градация: очень редко – вид собирался (регистрировался) всего один раз или известен только из одного пункта (иногда из нескольких мест в одном пункте или в одном пункте найден в разные годы); редко – вид известен из 2–5 пунктов; довольно редко – вид известен из 6–20 пунктов; нередко – вид обнаружен в 1/4 или 1/3 пригодных биотопов; часто – встречается на 1/3–2/3 пригодных биотопов; обычно – повсеместно встречающиеся и

«Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их болезни, вредители и сорные растения» (<http://www.agroatlas.ru>), созданы двенадцать лет назад (Афонин и др., 2008). Появившиеся в течение последних лет научные публикации, а также публикации прошлых лет, появившиеся в открытом доступе на веб-ресурсах, позволили выполнить ревизию и усовершенствование этих карт. Построение карт с подразделением зон общего распространения на зоны частой и редкой встречаемости видов осуществлено впервые.

обычно массовые виды. (Кравченко, 2007). Во избежание «пестроты» формируемых карт, возможной в случае, если авторы флористических публикаций не четко придерживались этой градации, или пользовались своей шкалой, было решено объединить территории областей, где вид характеризуется показателями встречаемости «очень часто», «часто» «обыкновенно», «нередко» в территорию с показателем «часто», а территории областей, где вид характеризуется показателями встречаемости «очень редко», «редко», «довольно редко», «спорадически», объединить в территорию с показателем «редко». Эти территории выделены разными видами штриховки. Построение карт осуществлялось с использованием программы IDRISI Selva 17.0 (Clark Labs, 2013). Полученная карта векторизована в программе MapInfo 16.0 (Pitney Bowes Software, 2016). Названия таксонов приведены в соответствии с современной номенклатурой (Маевский, 2014).

Результаты

Латук татарский – восточноевропейско-азиатский лесостепной и степной вид. Общее распространение этого вида в 20-м веке охватывает территорию отдельных стран Европы, Кавказ, Азию, Японию, часть Северной Америки, благодаря чему латук татарский приобретает статус инвазивного вида (Stebbins, 1939; Savulescu, 1952; Красноборов и др., 1997; Lebeda et al, 2004; Berg, Barth, 2008; Andersson, 2013; Kowalski et al., 2015; CAB, 2020).

Латук татарский – корнеотпрысковый травянистый многолетник, распространен довольно широко, от зоны смешанных лесов до зоны пустынь (Кравченко, Будревская, 2008а). Предпочитает песчаные и глинистые почвы, растет по речным обрывам и у водоемов, часто встречается на песках морских побережий, а также в горах. В зоне южных степей представляет собой распространенное сеgetальной сорное растение, но к северу это его значение снижается. Засоряет посевы многих полевых культур, особенно зерновых, отмечен на залежных землях, встречается в огородах, садах, на бахчах, в лесозащитных полосах, часто большими группами (Род 1654 ..., 1964; Karlin, Urakhintseva, 2017).

Зона общего распространения латука татарского на территории РФ довольно обширна и простирается от Республики Карелия до Приморского края на Дальнем Востоке. Территория оптимума вида, где уровень встречаемости высок и характеризуется такими показателями, как «очень часто», «часто», «обычно», расположена на европейской части в областях средней и Южной России и охватывает Центрально-Черноземный регион (Полуянов,

1995; Казакова, 1996; Еленевский и др., 2004; Григорьевская и др., 2016), Пензенскую область (Солянов, 2001), Республику Мордовия (Силаева и др., 2010), юг Нижегородской области (Аверкиев Д., Аверкиев В., 1985), Самарскую (Плаксина, 2001), Ульяновскую (Благовещенский, Раков, 1994) области, Республику Татарстан (Плаксина, 2001; Бакин и др., 2000), Республику Чувашия (Гафурова, 2014), западную часть Республики Башкирии (Плаксина, 2001), Саратовскую (Плаксина, 2001; Маевский, 2014), Волгоградскую (Голуб и др., 2002), Ростовскую (Абрамова и др., 1984), Астраханскую (Лактионов, 2009) области, Краснодарский (Никитин, 1983) и Ставропольский (Иванов, 1997) края, Республику Дагестан (Муртазалиев, 2009), Северный Кавказ (Галушко, 1980). За Уралом зона оптимума расположена на территории юга Челябинской области (Куликов, 2010), почти на всей территории Курганской, кроме самых северных районов (Науменко, 2008), в Оренбургской области (Плаксина, 2001), на юге Красноярского края (Положий и др., 1980), в южной части Омской (Красноборов и др., 1997) и Новосибирской (Красноборов и др., 2000) областей, в западной части Кемеровской (Красноборов и др., 2001), в Алтайском крае, кроме северо-востока (Красноборов и др., 2003), в Республике Алтай, кроме самой северной части (Красноборов и др., 2012), и в западной части Республики Тыва (Красноборов и др., 2007).

Зона распространения латука татарского, характеризующаяся показателями его встречаемости как «редко», «очень редко», «нечасто», «спорадически» расположена к северу,

югу и востоку от зоны оптимума. С юга это республика Калмыкия (Бакташева, 2012). В северной части это области Средней России (Маевский, 2014), Республика Карелия (Кравченко, 2007), Северо-Западного региона (Цвелев, 2000; Орлова, 1993), Калининградской области (Губарева и др., 1999), южной части Кировской (Александров и др., 1974) и западной части Пермской (Овеснов и др., 2007) областей, Республики Удмуртия (Баранова, Пузырев, 2012), северо-восточной части Республики Башкирия, северо-западной части Челябинской области (Куликов, 2010), в Тюменской области (Красноборов и др., 1997), в северной части Омской (Красноборов и др., 1997) и Новосибирской (Красноборов и др., 2000) областей, на северо-востоке Алтайского края (Красноборов и др., 2003), во всех районах, кроме западных в Кемеровской области (Красноборов и др., 2001), в республике Хакассия (Красноборов и др., 1997), на юге Красноярского края (Положий и др., 1980) и Иркутской области (Чепинога и др., 2008), на западе Амурской области (Харкевич, 1992), в Приморском (Нечаева, 1993) и Хабаровском крае (Шлоттгаузер и др., 2001).

Зона вредности этого вида, указанная на карте, представленной в «Агроатласе...», была значительно откорректирована. Эта зона очерчена границами территории, на которой латук татарский встречается «часто», и по сравнению с прежним вариантом (Кравченко, Будревская, 2008а), на европейской части РФ к ней добавляется территория южных областей Северного Кавказа, Республики Дагестан и Астраханской области. На севере европейской части РФ она продвинута на территорию южной части Нижегородской области, и территорию Республик Марий Эл, Чувашской и Татарстана. Восточная оконечность зоны вредности продлена на территорию восточной части Алтайского края, Республик Алтай и Тыва (рис. 1).

Латук компасный – европейско-западноазиатский степной вид, зимующий однолетник или двулетник. Общее распространение охватывает значительную территорию Европы и Азии, а также Северной Америки и Австралии, куда он был занесен (Lebeda et al., 2012; Красноборов и др., 1997, Chadha et al., 2019). Латук компасный является лекарственным растением (Janbaz et al., 2013; Bouimeja et al., 2019), а также дикорастущим родичем культурного салата-латука, проявившем резистентность к растительному патогену *Bremia lactucae*, являющемуся причиной заболевания мучнистой росой (Beharav et al., 2006). Поэтому изучение генетического разнообразия латука компасного, представленного многочисленными популяциями на всех континентах, является чрезвычайно важным (Van de Wiel, 2010). В связи с изменением климата и антропогенными нарушениями этот вид распространился очень широко (D'Andrea et al., 2009), и изучение распространения этого вида осуществляется в разных странах (Hoofman et al., 2006; Carter, 1985; Weaver, Downs, 2003), в том числе и на краю ареала (Prince, 1985). Однако картирование до сих пор не детализировалось согласно частоте его встречаемости на разных территориях. На территории РФ латук компасный тяготеет к южным регионам (Кравченко, Будревская, 2008б).

Этот вид предпочитает сухостепное увлажнение, хотя может выдерживать увлажнение в интервале от полупустынного до сырлугового. Произрастает на богатых и довольно богатых почвах. Это – степное растение, но в настоящее время оно более распространено как сорное растение. Обычно встречается в ущельях и оврагах, по берегам небольших рек в предгорьях и горных долинах, а также на вторичных местообитаниях, таких как обочины дорог, мусорные места, придомовые территории и залежи. Как сеgetальное сорное растение нередко отмечается в

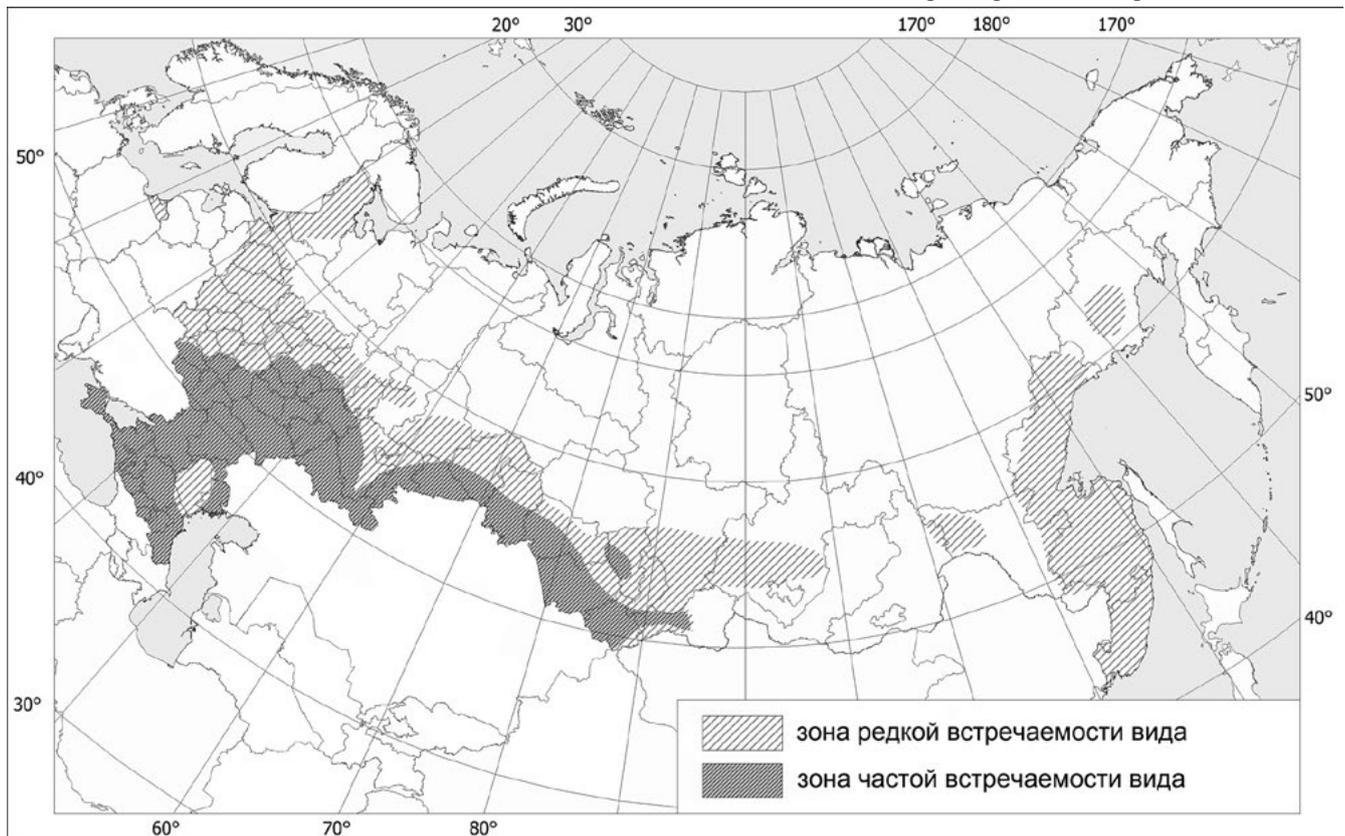


Рисунок 1. Распространение латука татарского на территории России

огородах, садах, виноградниках и гораздо реже в посевах зерновых культур (Род 1654 ..., 1964).

Зона оптимальных условий для произрастания латука компасного простирается от территории Северо-Кавказского Федерального Округа, кроме Дагестана (Галушко, 1980; Муртазалиев, 2009), Южного Федерального округа, кроме Республики Калмыкия (Абрамова и др., 1984; Бакташева, 2012; Голуб и др., 2002; Лактионов, 2009), через территорию Волжского Федерального округа (Силаева и др., 2010; Аверкиев Д., Аверкиев В., 1985; Благовещенский, Раков, 1994; Абрамов, 1995; Плаксина, 2001; Солянов, 2001; Рябинина, 2009; Маевский, 2014; Гафурова, 2014) охватывая в северной части зоны оптимума южную часть Нижегородской, Кировской областей и Республики Удмуртия (Александров и др., 1974; Аверкиев Д., Аверкиев В., 1985; Баранова, Пузырев, 2012). В Центральном Федеральном округе эта зона полностью охватывает области Центрального черноземного региона (Полуянов, 1995; Казакова и др., 1996; Еленевский и др., 2004; Григорьевская и др., 2016), средней России (Вахромеев, 2002; Казакова, 2004; Еленевский, Радыгина, 2005; Шереметьева и др., 2008; Решетникова и др., 2010; Маевский, 2014;) и южную часть Тверской, Ярославской и Ивановской областей (Нотов, 2009; Маевский, 2014). Отдельные участки зоны оптимума находятся на территории Сибирского региона, охватывая южную часть Омской, Новосибирской областей и западные районы Алтайского края (Красноборов и др., 1997; Красноборов и др., 2000; Красноборов и др., 2003), а также в Приморском крае (Нечаева, 1993).

В северной части Тверской, Ярославской и Ивановской областей начинается территория, где латук компасный встречается реже. Эта территория продолжается на Ярославскую область (Маевский, 2014), области Северо-Западного Федерального Округа (Орлова, 1993; Цвелев, 2000;

Кравченко, 2007), Калининградскую область (Губарева и др., 1999), северную часть Кировской (Александров и др., 1974) и южную часть Пермской (Овеснов и др., 2007) областей. На территории Уральского региона эта зона охватывает юг Свердловской и Тюменской, север Челябинской области, Курганскую область (Ермилов, 1961; Науменко, 2008; Куликов, 2010). В Сибирском Федеральном Округе зона редкой встречаемости вида охватывает север Новосибирской области, восточную часть Алтайского края, часть Кемеровской и Иркутской областей, Республик Тыва и Хакассия (Красноборов и др., 1997; Аненхонов и др., 2001; Красноборов и др., 2003; Красноборов и др., 2007; Чепинога и др., 2008). На дальнем востоке латук компасный является заносным видом и редко встречается на юге Хабаровского края (Шлоттгаузер, 2001) и в Еврейской автономной области (Белая, 1995).

Зона вредоносности латука компасного описывается границами территории, на которой этот вид встречается часто. Зона вредоносности также подкорректирована по сравнению с вариантом, представленным на карте в «Агроатласе» (Кравченко, Будревская, 2008б). На европейской части РФ она продвинута до областей Северо-Западного региона, на юге охватывает Краснодарский край, северокавказские республики, Республику Дагестан и Астраханскую область. На территории Уральского и Сибирского ФО зона вредоносности ограничена южной частью Омской, Новосибирской областей и западными районами Алтайского края. Кроме того, зоной вредоносности выделяется и Приморский край (рис. 2).

Латук сибирский – северо- и восточноевропейско-азиатско-североамериканский бореальный вид. Общее распространение охватывает Северную Европу, Россию, Монголию, Японию, Китай, а также Северную Америку (Красноборов и др., 1997). Поскольку исследованиями

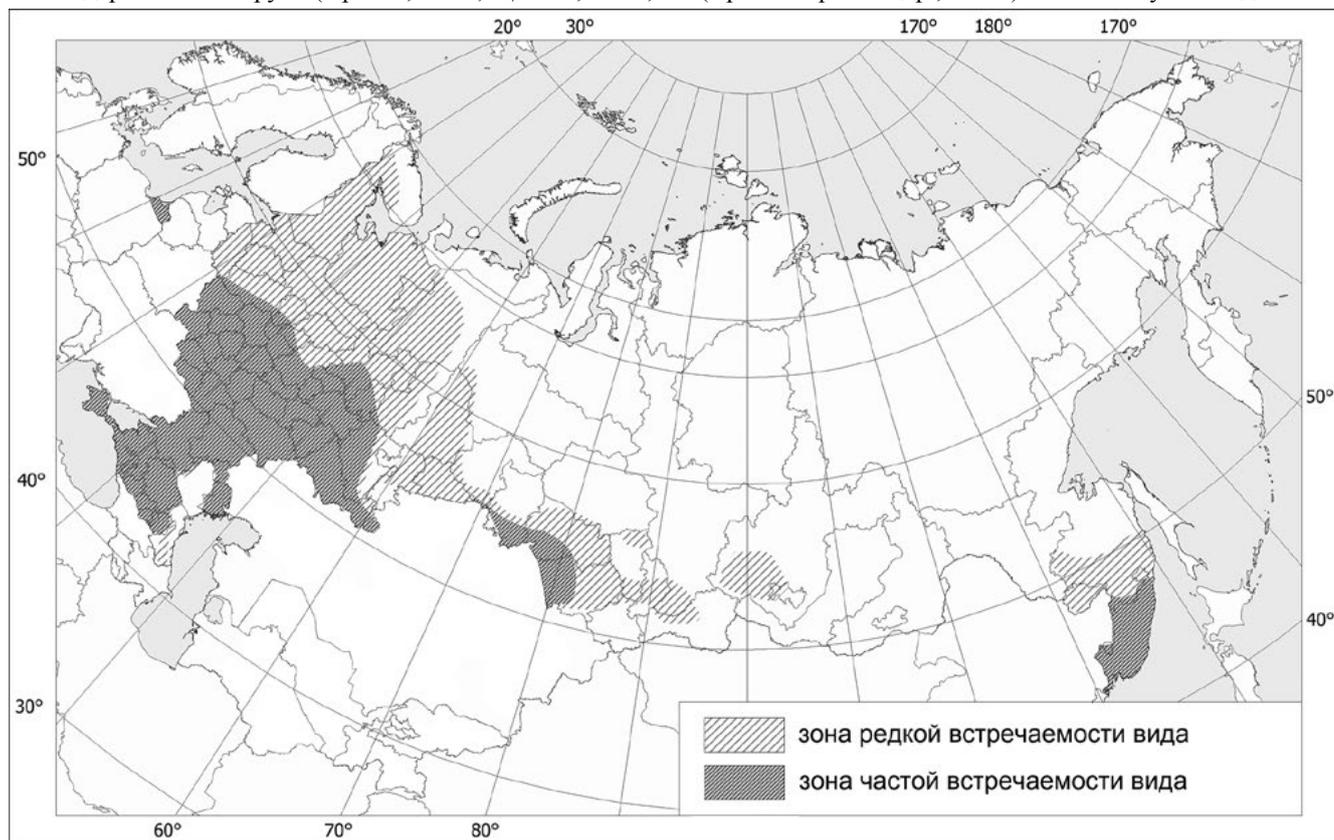


Рисунок 2. Распространение латука компасного на территории России

были выявлены его свойства, как лекарственного растения (Kisiel, Michalska, 2008), вид является объектом исследования. Изучение генетического разнообразия для выявления резистентности этого вида к болезням и вредителям (Lebeda, 2009), как и изучение распространения этого вида также представляет интерес.

Латук сибирский – корнеотпрысковый травянистый многолетник – на территории России распространен в северных регионах (Кравченко, Будревская, 2008в) и входит в состав растительности лесной зоны, преимущественно лугов (пойменных и лесных). Предпочитает также опушки леса, особенно заросли кустарников и ивняков, часто растет вблизи канав и болот. Встречается на вторичных местообитаниях: гарях, залежах, пустырях и значительно реже – в посевах. В степной зоне встречается реже, главным образом около островков леса, на лугах, отмечен в зарослях полыни или в иных травянистых или травянисто-кустарничковых группировках. В лесотундру и лесостепь вид заходит изредка. Латук сибирский в настоящее время крайне редко встречается в агрофитоценозах, и по данным научных публикаций не характеризуется вредностью (Род 1654 ..., 1964).

Зона оптимума латука сибирского расположена на территории за Уралом: в Свердловской, Курганской областях (Горчаковский и др., 1994; Науменко, 2008), в Западной Сибири (Ермилов, 1961; Красноборов и др., 1997; Красноборов и др., 2000; Красноборов и др., 2001; Красноборов и др., 2003; Красноборов и др., 2012; Вылцан, 1994), Восточной Сибири (Андреев и др., 1974; Положий и др., 1980; Красноборов и др., 1997; Красноборов и др., 2007; Чепиного и др., 2008), на Дальнем Востоке (Воробьев и др., 1974; Белая и др., 1981; Харкевич, 1992; Нечаева, 1993; Шлоттгаузер, 2001; Лысенко, 2012).

Зона, где вид встречается реже, охватывает территорию северных районов Сибири (Мальшев, 1976; Красноборов и др., 1997), Южного Урала (Плаксина, 2001; Куликов, 2010), Предуралья (Овеснов и др., 2007; Баранова, Пузырев, 2012), Средней России (Бакин и др., 2000; Маевский, 2014), Северо-Востока (Александров и др., 1974; Абрамов ..., 1995), Северо-Запада (Орлова, 1993; Цвелев, 2000), Севера европейской части России (Клоков и др., 1966; Дорогостайская, 1972, Шмидт, 2005; Кравченко, 2007).

Несмотря на то, что на территории распространения латука сибирского явно выделяется зона оптимума, она не является зоной вредности данного вида (рис. 3).

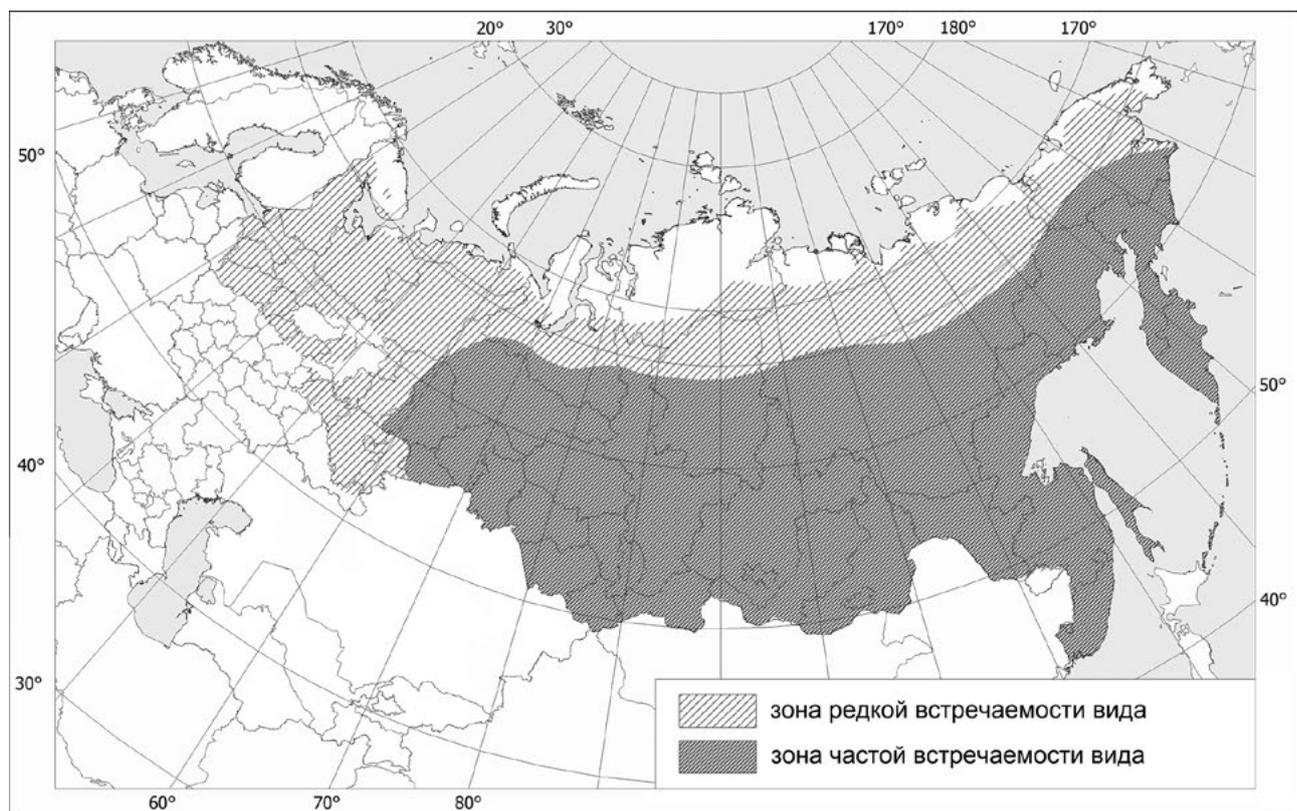


Рисунок 3. Распространение латука сибирского на территории России

Обсуждение

Построенные с использованием дополнительных материалов карты ареалов видов сорных растений из рода Латук являются более достоверными и подробными. В связи с проработкой более обширного публикационного материала, по сравнению с тем, что был использован при составлении предыдущих карт, конфигурация ареалов несколько изменилась, но не за счет пространственной динамики видов, а на основе информации, не использованной при составлении предыдущих карт. На этой основе удалось не только уточнить зоны распространения видов, но и

откорректировать зоны вредности латуков татарского и компасного. Поскольку, зоны вредности, выделенные в прежних вариантах карт, в новых картах практически совпали с территориями областей, где встречаемость этих видов характеризуется категорией «часто», то это было положено в основу корректировки прежних границ зон вредности. Окончательно границы зон вредности были описаны по территориям, где указанные виды характеризуются встречаемостью «часто».

На примере латука сибирского данная работа явилась продолжением направления по построению карт распространения на территории РФ видов сорных растений, которые не входят в число доминирующих в агрофитоценозах видов, поэтому для них не выделяется зона вредности (Лунева, Федорова, 2017, 2018). Вместе с тем вид, не доминирующий в агрофитоценозах, может быть широко представлен на естественных и рудеральных местообитаниях в зоне распространения, характеризующейся встречаемостью «часто».

Построенные карты свидетельствуют о том, что при значительном совпадении территорий распространения латуков татарского и компасного, латук компасный в европейской части РФ продвинул в более северные области, чем латук татарский, как в зоне частой, так и в зоне редкой встречаемости. Латук татарский в Западной и Восточной Сибири часто встречается на более обширной территории, чем латук компасный, а на Дальнем Востоке высокой частотой встречаемости характеризуется латук компасный. Распространение латука сибирского кардинально отличается от распространения предыдущих видов: обширная зона частой встречаемости вида простирается от Урала до восточной оконечности РФ, а зона редкой встречаемости занимает обширную северо-восточную территорию европейской части России. Показатели гидротермического

коэффициента (ГТК), как и суммы активных температур (САТ) в зонах частой и редкой встречаемости видов свидетельствует о том, что для латуков татарского и компасного фактор увлажнения менее значим для частоты их встречаемости (в обеих зонах ГТК 0.35), чем фактор тепла: в зоне частой встречаемости латука татарского показатель САТ на 341 °С выше, чем в зоне редкой встречаемости. Для латука компасного этот показатель составляет 126 °С (табл.).

Таблица. Гидротермические показатели зон распространения видов латуков: татарского, компасного и сибирского на территории РФ

Названия видов	Зоны распространения, характеризующиеся показателями частоты встречаемости (средний показатель для зоны):			
	Часто		Редко	
	ГТК	САТ	ГТК	САТ
Латук татарский	0.35	2078	0.35	1737
Латук компасный	0.35	2085	0.35	1959
Латук сибирский	1.52	1448	1.29	1036

На частоту встречаемости латука сибирского оказывает влияние не только фактор тепла, но и влаги: в зоне частой встречаемости средний показатель САТ на 412 °С, а средний показатель ГТК на 0.23 выше, чем в зоне редкой встречаемости.

Заключение

Картирование распространения видов сорных растений является необходимым аспектом фитосанитарного районирования территории в отношении сорных растений, а также создания карт комплексной вредности сорных растений на территории РФ. Создание подробных карт, базирующихся на сведениях о распространенности видов сорных растений в каждой административной области, предпочтительнее, чем картирование данных, обобщенных, например, по природным зонам: системы защиты сельскохозяйственных растений разрабатываются для каждой области, а границы природных зон и областей трудно сопоставимы.

Полученные результаты необходимы для разработки многолетнего регионального (областного) прогноза. Если в ходе фитосанитарного мониторинга выявляются виды, зона распространения которых приходится на территорию изучаемой области, можно прогнозировать распространение этих видов в агрофитоценозах области по крайней мере в течение ближайших пяти лет, как предписывает многолетний прогноз. Особенно это касается видов, для которых

в данной области указана зона частой встречаемости, в первую очередь – сеgetальных и сеgetально-рудеральных, которые будут доминировать в агрофитоценозах. Виды, находящиеся в изучаемой области на краю ареала, характеризуются частотой встречаемости «редко», не войдут в группу доминирующих в агрофитоценозах видов, даже если они относятся к сеgetальным или сеgetально-рудеральным. В то же время в агрофитоценозах встречается большое количество недоминирующих видов, которые в массе влияют на формирование типа засоренности посева (посадки). Поскольку подавляющее большинство видов сорных растений произрастают и на сеgetальных и на рудеральных местообитаниях (Никитин, 1983; Лунева, 2018), вхождение исследуемого региона в зону частой встречаемости такого недоминирующего вида обуславливает разработку превентивных мер контроля сорных растений в агроэкосистемах, препятствующих проникновению видов сорных растений с рудеральных местообитаний на сеgetальные, что обычно происходит при снижении уровня технологии возделывания сельскохозяйственных культур.

Библиографический список (References)

- Абрамов НВ (1995) Конспект флоры Республики Марий Эл. Йошкар-Ола: Марийский государственный университет. 192 с.
- Абрамова ТИ, Зозулин ГМ, Пашков ГД, Федяева ВВ и др (1984) Флора Нижнего Дона. Определитель. Ростов-на-Дону: Ростовский университет. 1:280 с.
- Аверкиев ДС, Аверкиев ВД (1985) Определитель растений Горьковской области. 2-е изд. Горький: Волго-Вятское книжное издательство. 320 с.
- Александров ФА, Клиросова ВП, Красовский ЛИ, Новикова НГ и др (1974) Определитель растений Кировской области. Киров: Кировский государственный педагогический институт. 1:256 с.
- Алехин ВВ, Кудряшов ЛВ, Говорухин ВС (1974) География растений с основами ботаники. М.: Учпедгиз. 1961. 532 с.
- Андреев ВН, Галактионова ТФ, Горовой ПГ, Караваев МН и др (1974) Определитель высших растений Якутии. Толмачев АИ (ред) Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. 543 с.
- Аненьконов ОА, Пыхалова ТД, Осипов КИ, Сэкулич ИР и др (2001) Определитель растений Бурятии. Улан-Удэ: Изд. «Республиканская типография». 672 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> (15.06.2020)
- Бакин ОВ, Рогова ТВ, Ситников АП (2000) Сосудистые растения Татарстана. Казань: Казанский университет. 496 с.
- Бакташева НМ (2012) Конспект флоры Калмыкии. Элиста: Калмыцкий университет. 112 с.

- Баранова ОГ, Пузырев АН (2012) Конспект флоры Удмуртской республики (сосудистые растения): Монография. М.: Ижевск: институт компьютерных исследований. 212 с.
- Белая ГА, Воробьев ДН, Гурзенков НН, Егорова ТВ и др (1981) Определитель сосудистых растений Камчатской области. Харкевич СС и Черепанов СК (ред). М.: Наука. 411 с.
- Белая ЕА, Морозов ВЛ (1995) Конспект флоры сосудистых растений Еврейской автономной области. Биробиджан: Дальневосточное отделение РАН. 205 с.
- Благовещенский ВВ, Раков НС (1994) Конспект флоры высших сосудистых растений Ульяновской области. Ульяновск: филиал Московского государственного университета им. Ломоносова. 95 с.
- Вахромеев ИВ (2002) Определитель сосудистых растений Владимирской области. Владимир: «Транзит-Икс». 314 с.
- Воробьев ДП, Ворошилов ВН, Гурзенков НН, Доронина ЮА и др (1974) Определитель высших растений Сахалина и Курильских островов. Л.: Наука, Ленинградское отделение. 372 с.
- Вылцан НФ (1994) Определитель растений Томской области. Томск: Томский университет. 301 с.
- Галушко АИ (1980) Флора Северного Кавказа. Определитель. Ростов-на-Дону: Ростовский университет. 3: 328
- Гафурова ММ (2014) Сорные растения Чувашской республики. Флора Волжского бассейна. Тольятти: Кассандра. 3: 333 с.
- Голуб ВБ, Лактионов АП, Бармин АН, Пилипенко ВН (2002) Конспект флоры сосудистых растений долины Нижней Волги. Тольятти: Институт экологии Волжского бассейна РАН. 509 с.
- Горчаковский ПЛ, Шурова ЕА, Князев МС, Марина ЛВ и др (1994) Определитель сосудистых растений Среднего Урала. М: Наука. 525 с.
- Григорьевская АЯ, Гамаскова ЕС, Пашенко АИ (2016) Флора Каменной Степи (Воронежская область): биогеографический, исторический, природоохранный аспекты: Монография. Тольятти: Кассандра. 284 с.
- Губарева ИЮ, Дедков ВП, Напреенко МГ, Петрова НГ и др (1999) Конспект сосудистых растений Калининградской области: Справочное пособие. Дедков ВП (ред) Калининград: Калининградский университет. 107 с.
- Дорогостайская ЕВ (1972) Сорные растения крайнего севера СССР. Л.: Наука. 172 с.
- Еленевский АГ, Радыгина ВИ (2005) Определитель сосудистых растений Орловской области. 2 изд. М.: Московский Государственный педагогический университет. 214 с.
- Еленевский АГ, Радыгина ВИ, Чадаева НН (2004) Растения Белгородской области. (Конспект флоры). М.: Московский Государственный педагогический университет. 120 с. Ермилов Г Б (1961) Краткий определитель растений Тюменской области. Тюмень: Тюменское книжное издательство. 251 с.
- Иванов АЛ (1997) Конспект флоры Ставрополя. Ставрополь: Ставропольский государственный университет. 156 с.
- Казакова МВ (2004) Флора Рязанской области. Рязань: Русское слово. 388 с.
- Казакова МВ, Ржевуская НА, Хлызова НЮ, Александрова КИ и др (1996) Флора Липецкой области. М.: Аргус. 373 с.
- Клоков МВ, Кузенева ОИ, Линчевский ИА, Орлова НИ и др (1966) Флора Мурманской области. М.; Л.: Наука. 5:550
- Кравченко АВ (2007) Конспект флоры Карелии. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН. 403 с.
- Кравченко ОЕ, Будревская ИА (2008а) *Lactuca tatarica*. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Lactuca_tatarica/index.html (15.06.2020)
- Кравченко ОЕ, Будревская ИА (2008б) *Lactuca serriola*. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Lactuca_serriola/index.html (15.06.2020)
- Кравченко ОЕ, Будревская ИА (2008в) *Lactuca sibirica*. Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения http://www.agroatlas.ru/ru/content/weeds/Lactuca_sibirica/index.html (15.06.2020)
- Красноборов ИМ, Артемов ИА, Ачимова АА, Агафонов АВ и др (2012) Определитель растений республики Алтай. Красноборов ИМ, Артемов ИА (ред) Новосибирск: Сибирское отделение РАН. 701 с.
- Красноборов ИМ, Крапивкина ЭД, Ломоносова МН, Будникова ГП и др (2001) Определитель растений Кемеровской области. Красноборов ИМ (ред) Новосибирск: Сибирское отделение РАН. 477 с.
- Красноборов ИМ, Ломоносова ИН, Тупицына НН, Жирова ОС и др (1997) Флора Сибири. Asteraceae (Compositae). Новосибирск: Сибирское отделение РАН. 13:472
- Красноборов ИМ, Ломоносова МН, Шауло ДН, Вибе ЕИ и др (2000) Определитель растений Новосибирской области. Новосибирск: Сибирское отделение РАН. 482 с.
- Красноборов ИМ, Ломоносова МН, Шауло ДН, Куцев МГ и др (2003) Определитель растений Алтайского края. Новосибирск Сибирское отделение РАН., филиал «Гео». 634 с.
- Красноборов ИМ, Ломоносова МН, Шауло ДН, Красников АА и др (2007) Определитель растений республики Тыва. Издание второе, дополненное. Шауло ДН (ред) Новосибирск: Сибирское отделение РАН. 706 с.
- Куликов ВП (2010) Определитель сосудистых растений Челябинской области. Екатеринбург: Уральское отделение РАН. 970 с.
- Лактионов АП (2009) Флора Астраханской области: монография. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет». 296 с.
- Лунева НН (2018а) Виды сорных растений в региональных сегетальных флорах на примере Ленинградской и Липецкой областей. Материалы XV Международной научно-практической экологической конференции «Биологический вид в структурно-функциональной иерархии Биосферы». 100–104.
- Лунева НН (2018б) Сорные растения: происхождение и состав. *Вестник защиты растений* 1 (95): 26–32.
- Лунева НН, Федорова ЮА (2017) Распространение лапчатки гусиной *Potentilla anserina* L.(Rosaceae Juss.) на территории России. *Вестник защиты растений* 4:68–70.
- Лунева НН, Федорова ЮА (2018) Распространение щавелей длиннолистного *Rumex longifolius* и лугового *R. acetosa* (Polygonaceae) на территории России. *Вестник защиты растений* 2(96):57–61.
- Лысенко ДС (2012) Синантропная флора Магаданской области. Магадан: Северо-Восточный научный центр Дальневосточного отделения РАН. 111 с.
- Маевский ПФ (2014) Флора средней полосы европейской части России. 11-е изд. М.: Товарищество научных изданий КМК. 635 с.
- Мальшев ЛИ (ред.) (1976) Флора Путорана. Материалы к познанию особенностей состава и генезиса горных субарктических флор Сибири. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение. 246 с.
- Муртазалиев РА (2009) Конспект флоры Дагестана. (Lycorodiaceae – Urticaceae) Камелин РВ (ред) Махачкала: Издательский дом «Эпоха». 1:320
- Науменко НИ (2008) Флора и растительность южного Зауралья: Монография. Курган: Курганский государственный университет. 512 с.
- Нечаева ТИ (1993) Определитель сорных растений Приморского края. Владивосток: Дальневосточный университет. 92 с.
- Никитин ВВ (1983) Сорные растения флоры СССР. Л.: Наука. 454 с.
- Нотов АА (2009) Адвентивный компонент флоры Тверской области: динамика состава и структуры. Тверь: Тверской государственный университет. 473 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 (1993) Конспект флоры Вологодской области. Высшие растения. *Труды Санкт-Петербургского общества естествоиспытателей*. Санкт-Петербург: Алга-Фонд. 77 (3): 262

- Плаксина ТИ (2001) Конспект флоры Волго-Уральского региона. Самара: Изд-во «Самарский университет». 388 с.
- Положий АВ, Амелыченко ВП, Вылцан НФ, Копанева ГА и др (1980) Флора Красноярского края. Asteraceae (Compositae). Томск: Томский университет. 10:126
- Полюянов АВ (1995) Флора Курской области. Курск: Курский государственный университет. 264 с.
- Решетникова НМ, Майоров СР, Скворцов АК, Крылов АВ и др. (2010) Калужская флора. Аннотированный список сосудистых растений Калужской области. М.: Товарищество научных изданий КМК. 548 с.
- Род 1654. Латука. Салат. *Lactuca*. (1964). В кн.: Бобров ЕГ и Цвелёв НН (ред) Флора СССР. М.; Л.: АН СССР. 29:274–317
- Рябинина ЗН, Князев МС (2009) Определитель сосудистых растений Оренбургской области. М.: Товарищество научных изданий КМК. 758 с.
- Силаева ТБ, Кирюхин ИВ, Чугунов ГГ, Лёвин ВК и др (2010) Сосудистые растения Республики Мордовия (конспект флоры): монография. Саранск: Мордовский государственный университет. 352 с.
- Солянов АА (2001) Флора Пензенской области. Пенза: Пензенский государственный педагогический университет. 310 с.
- Терехина ТА, Лулева НН (2018) Распространение сорных растений в регионах (на примере Алтайского края и Ленинградской области). Экология и география растений и растительных сообществ: материалы IV Международной научной конференции (Екатеринбург, 16–19 апреля 2018 г.). Екатеринбург: Уральский университет. 935–938.
- Харкевич СС (ред) (1992) Сосудистые растения Советского Дальнего Востока. Л.: Наука. 6:380
- Цвелёв НН (2000) Определитель сосудистых растений северо-западной России (Ленинградская, Псковская и Новгородская области). СПб: Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия. 781 с.
- Чепинога ВВ, Степанцова НВ, Гребенюк АВ, Верхозина АВ и др. (2008) Конспект флоры Иркутской области (сосудистые растения). Малышев ЛИ (ред) Иркутск: Иркутский государственный университет. 327 с.
- Шереметьева ИС, Хорун ЛВ, Шербаков АВ (2008) Конспект флоры сосудистых растений Тульской области. Новикова ВС (ред) Тула: Гриф и К. 274 с.
- Шлотгаузер СД, Крюкова МВ, Антонова ЛА (2001) Сосудистые растения Хабаровского края и их охрана. Владивосток-Хабаровск: Дальневосточное отделение РАН. 195 с.
- Шмидт ВМ (2005) Флора Архангельской области СПб: Санкт-Петербургский государственный университет. 346 с.
- Andersson UB (2013) *Vicia dumetorum* and *Lactuca tatarica* found on Öland, Sweden. *Svensk Botanisk Tidskrift* 107(5):297.
- Auld B (2009) Guidelines for Monitoring Weed Control and Recovery of Native Vegetation. NSW Department of Primary Industries, New South Wales. 28 p.
- Beharav A, Lewinsohn D, Lebeda A, Nevo E (2006). New wild *Lactuca* genetic resources with resistance against *Bremia lactucae*. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53(3):467–474. <https://doi.org/10.1007/s10722-004-1932-7>
- Berg C, Barth H (2008). Does the inner Baltic Sea coast provide a habitat for invasive neophytes. In: Rabitsch, W, Essl F, Klingenstein F (eds) *Biol. Invas. Neobiota* 7:218–223.
- Bouimeja B, Yetongnon KH, Touloun O, Berrougui H et al (2019). Studies on antivenom activity of *Lactuca serriola* methanolic extract against *Buthus atlantis* scorpion venom by in vivo methods. *S. Afr. J. Bot* 125:270–279. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.07.044>
- CABI (2020) *Lactuca tatarica*. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. URL: <https://www.cabi.org/isc/datasheet/115098> (13.05.2020)
- Carter RN (1985) The Geographical Distribution of Prickly Lettuce (*Lactuca serriola*): I. A General Survey of its Habitats and Performance in Britain. *J. Ecol.* 73(1):49–64. <https://doi.org/10.2307/2259765>
- Chadha A, Florentine S, Chauhan BS, Long B et al (2019) Environmental factors affecting the germination and seedling emergence of two populations of an emerging agricultural weed: wild lettuce (*Lactuca serriola*). *Crop pasture sci.* 70(8):709–717. <https://doi.org/10.1071/CP18594>
- Clark Labs (2013) IDRISI Selva Edition 17.02. Clark University, Worcester MA, USA. <https://clarklabs.org/terrsset/idrisi-gis> (14.05.2020)
- D'Andrea L, Broennimann O, Kozłowski G, Guisan A et al (2009) Climate change, anthropogenic disturbance and the northward range expansion of *Lactuca serriola* (Asteraceae). *J. Biogeogr.* 36:1573–1587. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2008.02060.x>
- Hoofman DAP, Oostermeijer JGB, den Nijs JCM (2006) Invasive behaviour of *Lactuca serriola* (Asteraceae) in the Netherlands: Spatial distribution and ecological amplitude. *Basic Appl Ecol.* 7(6):507–519. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.12.006>
- Hultén E, Fries M (1986) Atlas of North European vascular plants north of the Tropic of Cancer. Oberreifenberg: Koeltz Scientific. 1172 p.
- Janbaz KH, Latif MF, Saqib F, Imran I et al (2013) Pharmacological effects of *Lactuca serriola* L. in experimental model of gastrointestinal, respiratory, and vascular ailments. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/304394>
- Kaplin V, Urakchintseva G (2017) Weed Communities and Their Effect on Productivity of Bread Spring Wheat in Dry Steppe of Western Kazakhstan. *Bulg j agric sci.* 23(5):770–778.
- Kisiel W, Michalska K (2008) Lignans and sesquiterpenoids from *Lactuca sibirica*. *Fitoterapia* 79(4):241–244. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.09.002>
- Krähmer H (ed) (2016) Atlas of weed mapping. John Wiley & Sons. 488 p. <https://doi.org/10.1002/9781118720691>
- Krähmer H, Andraesen C, Economou-Antonaka G, Holec J et al (2020) Weed surveys and weed mapping in Europe: State of the art and future tasks. *Crop Prot.* 129:105010. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.105010>
- Kowalski WA, Łysko A, Popiela A (2015) *Lactuca tatarica* (Asteraceae) in embryonic dunes on Wolin Island (NW Poland). *Biodivers Res Conserv.* 39(1):61–66. <https://doi.org/10.1515/biore-2015-0023>
- Lebeda A, Doležalová I, Feráková V, Astley D (2004). Geographical distribution of wild *Lactuca* species (Asteraceae, Lactuceae). *Bot. Rev.* 70(3):238–356. [https://doi.org/10.1663/0006-8101\(2004\)070\[0328:GDOWLS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/0006-8101(2004)070[0328:GDOWLS]2.0.CO;2)
- Lebeda A, Doležalová I, Novotná A (2012) Wild and weedy *Lactuca* species, their distribution, ecogeography and ecobiology in USA and Canada. *Genet. Resour. Crop Evol.* 59:1805–1822.
- Lebeda A, Křístková E, Doležalová I, Kitner M, Widrechner MP (2019) Wild *Lactuca* species in North America. *North American Crop Wild Relatives* 2:131–194. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9805-y>
- Lebeda A, Křístková E, Kitner M, Mieslerová B, Jemelková M, Pink DAC (2014) Wild *Lactuca* species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. *Eur. J. Plant Pathol.* 138:597–640.
- Prince SD (1985) The Geographical Distribution of Prickly Lettuce (*Lactuca serriola*): II. Characteristics of Populations Near its Distribution Limit in Britain. *J. Ecol.* 73(1):39–48. <https://doi.org/10.2307/2259767>
- Savulescu T (1952) Flora Republicii Populare Romane. 658 p.
- Stebbins GL (1939) Notes in *Lactuca* in Western North America. *Madrono* 5(4):123–126.
- USDA Natural Resources Conservation Service (2020). The PLANTS Database – *Lactuca tatarica*. National Plant Data Team, Greensboro, NC 27401-4901 USA. <https://plants.sc.egov.usda.gov/core/profile?symbol=LATA> (13.05.2020)
- Van de Wiel CCM, Rajičić TS, Van Treuren R, Dehmer KJ et al (2010). Distribution of genetic diversity in wild European populations of prickly lettuce (*Lactuca serriola*): implications for plant genetic resources management. *Plant Genet.* 8(2):171–181. <https://doi.org/10.1017/S1479262110000134>
- Weaver SE, Downs MP (2003). The biology of Canadian weeds. 122. *Lactuca serriola* L. *Can. J. Plant Sci.* 83(3):619–628. <https://doi.org/10.4141/P02-059>

Translation of Russian References

- Abramov NV (1995) *Konspekt flory respubliki Mariy El* [Synopsis of the flora of the Mari El Republic]. Yoshkar-Ola: Mariyskiy Gosudarstvennyy Universitet. 192 p. (In Russian)
- Abramova TI, Zozulin GM, Pashkov GD, Fedyayeva VV et al (1984) *Flora Nizhnego Dona* [Flora of the Lower Don]. Identification key. Rostov-na-Donu: Rostovskiy universitet. 1:280 p. (In Russian)
- Afonin AN, Grin SL, Dzyubenko NI, Frolov AN (eds.) (2008) [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. <http://www.agroatlas.ru> (15.06.2020) (In Russian)
- Alekhin VV, Kudryashov LV, Govoruhin VS (1961) *Geografiya rasteniy s osnovami botaniki* [Geography of plants with the basics of botany]. Moscow: Uchpedgiz. 532 p. (In Russian)
- Alexandrov FA, Klirosova VP, Krasovskiy LI, Novikova NG, et al (1974) *Opredelitel rasteniy Kirovskoy oblasti* [Plant identification key of the Kirov region]. Kirov: Kirovskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy institut. 1:256 p. (In Russian)
- Andreev VN, Galaktionova TF, Gorovoy PG, Karavaev MN et al (1974) *Opredelitel vysshich rasteniy Yakutii* [Identification key of higher plants of Yakutia]. Tolmachev AI (ed) Novosibirsk: Nauka, Sibirskoye otdeleniye. 543 p. (In Russian)
- Anenkhonov OA, Pykhalova TD, Osipov KI, Sekulich IR et al (2001) *Opredelitel rasteniy Buryatii* [Plant identification key of Buryatia]. Ulan-Ude: Izdatelstvo «Respublikanskaya tipografiya». 672 p. (In Russian)
- Averkiev DS, Averkiev VD (1985) *Opredelitel rasteniy Gorkovskoy oblasti* [Identification key of plants of Gorky region]. 2nd ed. Gorkiy: Volgo-Vyatskoye knizhnoye izdatelstvo. 320 p. (In Russian)
- Bakin OV, Rogova TV, Sitnikov AP (2000) *Sosudistyeye rasteniya Tatarstana* [Vascular plants of Tatarstan]. Kazan: Kazanskiy Universitet. 496 p. (In Russian)
- Baktasheva NM (2012) *Konspekt flory Kalmykii* [Synopsis of the flora of Kalmykia]. Elista: Kalmytskiy Universitet. 112 p. (In Russian)
- Baranova OG, Puzyrev AN (2012) *Konspekt flory Udmurtskoy Respubliki (sosudistyeye rasteniya): monografiya* [Synopsis of the flora of the Udmurt Republic (vascular plants): Monograph]. Moscow; Izhevsk: Institut kompyuternykh issledovaniy. 212 p. (In Russian)
- Belaya GA, Vorobyev DN, Kurzenkov NN, Egorova TV et al (1981) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Kamchatskoy oblasti* [Identification key of vascular plants of Kamchatskaya oblast]. Harkevich SS and Cherepanov SK (eds) Moscow: Nauka. 411 p. (In Russian)
- Belaya EA, Morozov VL (1995) *Konspekt flory sosudistykh rasteniy Yevreyskoy avtonomnoy oblasti* [Synopsis of the flora of vascular plants of the Jewish Autonomous region]. Birobidzhan: Dalnevostochnoye otdeleniye RAN. 205 p. (In Russian)
- Blagoveschenskij BV, Rakov NS (1994) *Konspekt flory vysshich sosudistykh rasteniy Ulyanovskoy oblasti* [Synopsis of the flora of higher vascular plants in Ulyanovsk region]. Ulyanovsk: filial Moskovskogo gosudarstvennogo universiteta imeni Lomonosova. 95 p. (In Russian)
- Chepinoga BB, Stepantsova NV, Grebenyuk AV, Verkhovina AV et al (2008) *Konspekt flory Irkutskoy oblasti (sosudistyeye rasteniya)* [Synopsis of the flora of the Irkutsk region (vascular plants)]. Malyshev LI (ed) Irkutsk: Irkutskiy gosudarstvennyy Universitet. 327 p. (In Russian)
- Dorogostayskaya EV (1972) *Sornyye rasteniya kraynego severa SSSR* [Weeds of the far North of the USSR]. Leningrad: Nauka. 172 p. (In Russian)
- Galushko AI (1980) *Flora Severnogo Kavkaza Opredelitel* [Flora of the Northern Caucasus. Identification key]. Rostov-na-Donu: Rostovskiy Universitet. 3: 328 (In Russian)
- Gafurova MM (2014) *Sornyye rasteniya Chuvashskoy respubliki. Flora Volzhskogo basseyna* [Weeds of the Chuvash Republic. Flora of the Volga basin]. Tolyatti: Kassandra. 3: 333 (In Russian)
- Genus 1654. Salat. *Lactuca* [Salad. *Lactuca*]. (1964) In: Bobrov EG, Tsvelev NN (eds) [Flora of the USSR]. Moscow; Leningrad: AN SSSR, 29:274–317 (In Russian)
- Golub VB, Laktionov AP, Barmin AN, Pilipenko VN (2002) *Konspekt flory sosudistykh rasteniy doliny Nizhney Volgi* [Synopsis of vascular plant flora of the Lower Volga valley]. Tolyatti: Institut ekologii volzhskogo basseyna RAN. 509 p. (In Russian)
- Gorchakovskiy PL, Shurova EA, Knyazev MS, Marina LV et al (1994) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Srednego Urala* [Identification key of vascular plants of the Middle Urals]. Moscow: Nauka. 525 p. (In Russian)
- Grigoryevskaya AJ, Gamaskova ES, Pashchenko AI (2016) *Flora Kamennoy Stepi (Voronezhskaya oblast) biogeograficheskoy, istoricheskoy, prirodookhrannoy aspekty: monografiya* [Flora of Kamennaya Steppe (Voronezh oblast): biogeographical, historical, environmental aspects: Monograph]. Tolyatti: Kassandra. 284 p. (In Russian)
- Gubareva IYu, Dedkov VP, Napreenko MG, Petrova NG et al (1999) *Konspekt sosudistykh rasteniy Kaliningradskoy oblasti. Spravochnoye posobiye* [Synopsis of vascular plants of the Kaliningrad region. Reference guide]. Dedkova VP (ed) Kaliningrad: Kaliningradskiy gosudarstvennyy universitet, 107 p. (In Russian)
- Ivanov AL (1997) *Konspekt flory Stavropolya* [Synopsis of the flora of Stavropol]. Stavropol: Stavropolskiy gosudarstvennyy universitet. 156 p. (In Russian)
- Kazakova MV (2004) *Flora Ryazanskoy oblasti* [Flora of Ryazan region]. Ryazan: Russkoye Slovo. 388 p. (In Russian)
- Kazakova MV, Rzhenskaya ON, Khlyzova NU, Aleksandrova KI et al (1996) *Flora Lipetskoy oblasti* [Flora of the Lipetsk region]. Moscow: Argus. 373 p. (In Russian)
- Kharkevich SS (ed) (1992) *Sosudistyeye rasteniya Sovetskogo Dalnego Vostoka* [Vascular plants of the Soviet Far East]. Leningrad: Nauka. 6:380 (In Russian)
- Klokov MV, Kuzeneva OI, Linchevskiy IA, Orlova NI et al (1966) *Flora Murmanskoy oblasti* [Flora of the Murmansk region]. Moscow; Leningrad: Nauka. 5: 550 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Artemov IA, Achimov AA, Agafonov AB et al (2012) *Opredelitel rasteniy Respubliki Altay* [Plant identification key of the Altai Republic]. Krasnoborov IM, Artemov IA (eds) Novosibirsk: Sibirskoye otdeleniye RAN. 701 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Krapivkina ED, Lomonosova MN, Budnikova GP, et al (2001) *Opredelitel rasteniy Kemerovskoy oblasti* [Plant identification key of plants of the Kemerovo region]. Krasnoborov IM (ed) Novosibirsk: Sibirskoye otdeleniye RAN. 477 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Lomonosova MN, Shaulo DN, Krasnikov AA et al (2007) *Opredelitel rasteniy Respubliki Tyva* [Plant identification key of the Republic of Tyva Republic]. Second edition, updated. Shaulo DN (ed). Novosibirsk: Sibirskoye otdeleniye RAN. 706 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Lomonosova MN, Shaulo DN, Kutsev MG et al (2003) *Opredelitel rasteniy Altayskogo kraya* [Plant identification key of the Altai territory]. Novosibirsk: Sibirskoye otdeleniye RAN, Filial “Geo”. 634 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Lomonosova MN, Shaulo DN, Vibe EI et al (2000) *Opredelitel rasteniy Novosibirskoy oblasti* [Plant identification key of the Novosibirsk region]. Novosibirsk: Nauka, Sibirskoye otdeleniye RAN. 482 p. (In Russian)
- Krasnoborov IM, Lomonosova IN, Tupitsyna NN, Zhironova OS et al (1997) *Flora Sibiri* [Flora of Siberia]. Asteraceae (Compositae) Novosibirsk: Nauka, Sibirskoye otdeleniye RAN. 13:472 (In Russian)
- Kravchenko AV (2007) *Konspekt flory Karelii* [Synopsis of the flora of Karelia]. Petrozavodsk: Karelskiy nauchnyy tsentr Rossiyskoy Akademii Nauk. 403 p. (In Russian)
- Kravchenko OE, Budrevskaya IA (2008a) *Lactuca tatarica. Agroekologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski znachimyye rasteniya, ikh vrediteli, bolezni i sornyye rasteniya* [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/en/content/weeds/Lactuca_tatarica/map/index.html (15.06.2020)
- Kravchenko OE, Budrevskaya IA (2008b) *Lactuca serriola. Agroekologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheski*

- znachimyye rasteniya, ikh vrediteli, bolezni i sornyye rasteniya [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/en/content/weeds/Lactuca_serriola/map/index.html (15.06.2020)
- Kravchenko OE, Budrevskaya IA (2008c) *Lactuca sibirica*. *Agroekologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh stran: ekonomicheskoye znachimyye rasteniya, ikh vrediteli, bolezni i sornyye rasteniya* [Agroecological Atlas of Russia and neighboring countries: economically significant plants, their pests, diseases and weeds]. http://www.agroatlas.ru/en/content/weeds/Lactuca_sibirica/map/index.html (15.06.2020)
- Kulikov VP (2010) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Chelyabinskoy oblasti* [Identification key of vascular plants of Chelyabinsk region]. Ekaterinburg: Uralskoye otdeleniye RAN. 970 p. (In Russian)
- Laktionov AP (2009) *Flora Astrakhanskoy oblasti: monografiya* [Flora of the Astrakhan region: monograph]. Astrakhan: Izdatelskiy dom "Astrakhanskiy Universitet". 296 p. (In Russian)
- Luneva N N (2018a) [Weeds species in regional segetal floras on the example of the Leningrad and Lipetsk regions]. *Materialy pyatnadtsatoy Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy ekologicheskoy konferentsii «Biologicheskoy vid v strukturno-funktsionalnoy iyerarkhii Biosfery»*. [Biological species in the structural and functional hierarchy of the Biosphere. Mat. XV Int. cient.-pract. Environm. Conf. 100–104. (In Russian)
- Luneva NN (2018b) [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, Fedorova YuA (2017) [Distribution of goosefoot *Potentilla anserina* L. (Rosaceae Juss.) on the territory of Russia]. *Vestnik zashchity rasteniy*. 1: 68–70.
- Luneva NN, Fedorova YuA (2018) Distribution of long-leaved sorrel *Rumex longifolius* and meadow *R. acetosa* (Polygonaceae) in Russia. *Vestnik zashchity rasteniy* 2(96): 57–61.
- Lysenko DS (2012) *Sinantropnaya flora Magadanskoy oblasti* [Sinanthropic flora of the Magadan region]. Magadan: Severo-Vostochnyy nauchnyy tsentr dalnevostochnogo otdeleniya RAN. 111 p. (In Russian)
- Malyshev LI (ed.) (1976) *Flora Putorana. Materialy k poznaniyu osobennostey sostava i genesis gornyykh subarkticheskikh flor Sibiri* [Flora of Putorana. Materials for the knowledge of the composition and Genesis of rocks subarctic flora of Siberia]. Novosibirsk: Nauka, Sibirskoye otdeleniye. 246 p. (In Russian)
- Maevskiy PF (2014) *Flora sregney polosy evropeyskoy chasti Rossii* [Flora of middle belt of the European part of Russia]. 11th ed. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK. 635 p. (In Russian)
- Murtazaliyev RA (2009) *Konspekt flory Dagestana* [Synopsis of the flora of Dagestan (Lycopodiaceae – Urticaceae)]. Kamelin RV (ed) Makhachkala: Izdatelskiy dom "Epokha". 1:320 p. (In Russian)
- Naumenko NI (2008) *Flora i rastitelnost Yuzhnogo Zauralya: monografiya* [Flora and vegetation of the southern Trans-Urals: Monograph]. Kurgan: Kurganskiy gosudarstvennyy Universitet. 512 p. (In Russian)
- Nechaeva TI (1993) *Opredelitel sornyykh rasteniy Primorskogo kraya* [Identification key of weed plants in the Primorye Territory]. Vladivostok: Dalnevostochnyy Universitet. 92 p. (In Russian)
- Nikitin VV (1983) *Sornyye rasteniya flory SSSR* [Weed plants of the USSR flora]. Leningrad: Nauka. 454 p. (In Russian)
- Notov AA (2009) *Adventivnyy component flory Tverskoy oblasti: dinamika sostava i struktury* [Adventive component of flora of Tver region: dynamics of composition and structure]. Tver: Tverskoy gosudarstvennyy Universitet. 473 p. (In Russian)
- Orlova NI (1993) *Konspekt flory Vologodskoy oblasti. Vysshie rasteniya* [Synopsis of the flora of the Vologda region. Higher plants]. *Trudy Sankt-Peterburgskogo obshchestva estestvoispytateley* St. Petersburg: Alga-Fond. 77(3):262 p. (In Russian)
- Ovesnov SA, Efimik EG, Kozminykh TV, Baranova OG et al (2007) *Illyustrirovannyy opredelitel rasteniy Permskogo kraya* [Illustrated plant identification key of the Perm region]. Ovesnov SA (ed) Perm: Knizhnyy mir. 743 p. (In Russian)
- Plaksina TI (2001) *Konspekt flory Volzhsko-Uralskogo regiona* [Synopsis of the flora of the Volga-Ural region]. Samara: Izdatelstvo «Samskiy Universitet». 388 p. (In Russian)
- Polozhiy AV, Amelchenko VP, Vyltsan NF, Kopaneva GA et al (1980) *Flora Krasnoyarskogo kraya* [Flora of the Krasnoyarsk territory]. Asteraceae (Compositae). Tomsk: Tomskiy Universitet. 10:126 (In Russian)
- Poluyanov AV (1995) *Flora Kurskoy oblasti* [Flora of Kursk region]. Kursk: Kurskiy gosudarstvennyy Universitet. 264 p.
- Reshetnikova NM, Mayorov SR, Skvortsov AK, Krylov AV et al (2010) *Kaluzhskaya flora. Annotirovanniy spisok sosudistykh rasteniy Kaluzhskoy oblasti* [Kaluga flora. Annotated list of vascular plants of Kaluga region]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK. 548 p. (In Russian)
- Ryabinina ZN, Knyazev MS (2009) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Orenburgskoy oblasti* [The identification key of vascular plants in the Orenburg region]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK. 758 p. (In Russian)
- Sheremeteyeva IS, Khorun LV, Shcherbakov AV (2008) *Konspekt flory sosudistykh rasteniy Tul'skoy oblasti* [Synopsis of vascular plant flora of the Tula region]. Novikov VS (ed) Tula: Grif i K. 274 p. (In Russian)
- Shlotgauser SD, Kryukova MV, Antonova LA (2001) *Sosudistyye rasteniya Khabarovskogo kraya i ikh okhrana* [Vascular plants of the Khabarovsk Territory and their protection]. Vladivostok-Khabarovsk: Dalnevostochnoye otdeleniye RAN. 195 p. (In Russian)
- Shmidt VM (2005) *Flora Arkhangel'skoy oblasti* [Flora of the Arkhangelsk Region]. St. Petersburg: Sankt-Peterburgskiy gosudarstvennyy universitet. 346 p. (In Russian)
- Silaeva TB, Kiryukhin IV, Chugunov GG, Levin VK et al (2010) *Sosudistyye rasteniya Respubliki Mordoviya (konspekt flory): monografiya* [Vascular plants of the Republic of Mordovia (synopsis of flora): monograph]. Saransk: Mordovskiy gosudarstvennyy universitet. 352 p. (In Russian)
- Solanov AA (2001) *Flora Penzenskoy oblasti* [Flora of the Penza region]. Penza: Penzenskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy universitet. 310 p. (In Russian)
- Terekhina TA, Luneva NN (2018) [Distribution of weeds in regions (on the example of the Altai territory and the Leningrad region)]. *Ekologiya i geografiya rasteniy i rastitelnykh soobshchestv. Materialy chetvertoy Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii* [Ecology and geography of plants and plant communities. Proceedings of the IV International scientific conference (Yekaterinburg, April 16–19, 2018)]. Yekaterinburg: Uralskiy universitet. 935–938. (In Russian)
- Tsvelev NN (2000) *Opredelitel sosudistykh rasteniy severo-zapadnoy Rossii (Leningradskaya, Rskovskaya i Novgorodskaya oblasti)* [Identification key for determinant of vascular plants in northwestern Russia (Leningrad, Pskov and Novgorod regions)]. SPb: Sankt-Peterburgskaya khimiko-farmatsevticheskaya akademii. 781 p. (In Russian)
- Vakhromeev IV (2002) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Vladimirskoy oblasti* [Identification key for of the vascular plants of Vladimir oblast]. Vladimir: «Tranzit-Iks». 314 p. (In Russian)
- Vorobyov DP, Voroshilov VN, Gurzenkov NN, Doronina YuA et al (1974) *Opredelitel vysshyykh rasteniy Sakhalina i Kuril'skikh ostrovov* [Identification key of higher plants of Sakhalin and the Kuril Islands]. L.: Nauka, Leningradskoye otdeleniye. 372 p. (In Russian)
- Vyltsan NF (1994) *Opredelitel rasteniy Tomskoy oblasti* [Plant identification key of plants of the Tomsk region]. Tomsk: Tomskiy Universitet. 301 p. (In Russian)
- Yelenevskiy AG, Radygina VI (2005) *Opredelitel sosudistykh rasteniy Orlovskoy oblasti* [Identification key of vascular plants of the Oryol region]. 2 ed. Moscow: Moskovskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy universitet. 214 p. (In Russian)
- Yelenevskiy AG, Radygina VI, Chaadaeva NN (2004) *Rasteniya Belgorodskoy oblasti. Konspekt flory* [Plants in Belgorod region]. (Synopsis of flora). Moscow: Moskovskiy gosudarstvennyy pedagogicheskiy universitet. 120 p. (In Russian)
- Yermilov GB (1961) *Kratkiy opredelitel rasteniy Tyumenskoy oblasti* [Brief identification key of plants of the Tyumen region]. Tyumen: Tyumenskoye knizhnoye Izdatelstvo. 251 p. (In Russian)

DISTRIBUTION OF THE PRICKLY LETTUCE *LACTUCA SERRIOLA*, THE SIBERIAN LETTUCE *LACTUCA SIBIRICA* AND BLUE LETTUCE *LACTUCA TATARICA* (COMPOSITAE) IN RUSSIA

N.N. Luneva¹, Yu.A. Fedorova²

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

²Saint-Petersburg state University Institute of Earth Sciences, Saint-Petersburg, Russia

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

Based on the materials of freely accessible scientific publications, the distribution maps of three weed species of *Lactuca* genus were reviewed and updated for Russia: the prickly lettuce *Lactuca serriola*, the Siberian lettuce *Lactuca sibirica* and the blue lettuce *Lactuca tatarica*. The basis for the maps was the online resource “Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds” published twelve years ago. New data on the distribution of these species as well as recent publications were used in the verification of the distribution of these species in Russia. Corrections and additions were made based on the analysis of published information about the species’ distribution in certain areas and regions, therefore new maps are more reliable and detailed. The data for each region were used to merge areas of occurrence rates designated as “very frequent”, “frequent” and “common” into one “frequent” occurrence zone. Similarly, areas of occurrence rates of “rare”, “very rare”, “infrequent” and “sporadic” were merged into one “infrequent” occurrence zone. Area with “frequent” occurrence rate is identified as the zone of harmfulness. It was shown, that for Siberian lettuce there is no harmfulness zone since this species has habitats in coasts and forest margins and rarely occurs in ruderal and segetal habitats. Its distribution can be classified into zones of “frequent” and “infrequent” abundance.

Keywords: weed plant, compass lettuce, Tatar lettuce, Siberian lettuce, distribution, map, Russia

Received: 30.03.2020

Accepted: 14.05.2020

HETEROLOGOUS EXPRESSION OF TWO ACETYLCHOLINESTERASES OF COLORADO POTATO BEETLE *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* IN BACTERIA *ESCHERICHIA COLI* AND PRODUCTION OF FORM-SPECIFIC ANTIBODIES

V.V. Dolgikh*, I.V. Senderskiy, V.S. Zhuravlyov, S.A. Timofeev, Yu.V. Volodartseva,
S.R. Fasulati, D.S. Kireeva

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

*corresponding author, e-mail: dollslav@yahoo.com

The Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* is a widespread pest of plants of the Solanaceae family. Huge economic loss caused by *L. decemlineata* around the world is multiplied by its ability to develop resistance to all major insecticide classes. Previously, such resistance was found to be associated with mutations in the target enzyme LdAChE2, orthologous to *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase. However, discovery of the second form of *L. decemlineata* acetylcholinesterase LdAChE1 has changed this view. In order to compare the role of two acetylcholinesterase forms in the Colorado potato beetle physiology and in pest resistance to insecticides, gene copies were cloned and their heterologous expression in bacteria *E. coli* was followed by production of polyclonal antibodies against the recombinant proteins. Immunoblotting with produced antibodies demonstrated the absence of cross-reactivity, a lower content of LdAChE1 in the tissues of *L. decemlineata* adults compared with the second form, and the association of LdAChE2 with membranes. Further immunoaffinity purification of natural enzymes from the beetle tissues as well as their heterologous expression in insect cell cultures should help to evaluate the role of each form in physiology of the pest and in its resistance to insecticides.

Keywords: Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, acetylcholinesterase, heterologous expression, polyclonal antibodies, immunoblotting

Received: 01.05.2020

Accepted: 28.05.2020

Introduction

The Colorado potato beetle (CPB), *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), is a widespread pest of crops of the family Solanaceae, that may cause complete defoliation of potato plants. Huge economic loss caused by CPB in North America, Europe and Asia is multiplied by its ability to develop resistance to all major insecticide classes (Alyokhin et al., 2008). In many cases such resistance may be associated to mutations in their target enzyme acetylcholinesterase (AChE, EC 3.1.1.7) (Yao et al., 1997; Kim et al., 2006; Malekmohammadia et al., 2012; Pang, 2014). The enzyme AChE plays an important role in the cholinergic synapses, participating in the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine. Finding of the single gene in *Drosophila melanogaster* (Hall, Spierer, 1986; Harel et al., 2000) has suggested that insects have only one AChE form (Toutant, 1989). However, the genes encoding the second enzyme has been found later in *Anopheles gambiae* and other insect genomes (Weill et al., 2002; Villatte, Bachmann, 2002) except for the true flies. To date, the orthologs of *D. melanogaster* genes are named as *ace2* and the orthologs of *A. gambiae* *ace1* gene are named as *ace1* (Huchard et al., 2006).

Although the first studies of *L. decemlineata* AChE (Zhu, Clark, 1995) mutations in insecticide-resistant populations of the pest were performed on the gene orthologous to *D. melanogaster* *ace2* (Kim et al., 2006; Malekmohammadi et al., 2012), in 2011, the second enzyme form was identified in CPB (Revuelta et al., 2011). In comparison with LdAChE2, this enzyme demonstrated higher expression level, its RNAi resulted in a reduction of about 50% of total enzyme activity

and in increasing insect mortality by 43%. RNAi of the LdAChE2 gene reduced AChE activity to 85% and increased mortality by 29%. Based on these data, the authors proposed to revise the association between CPB resistance to insecticides and mutations in the gene encoding LdAChE2 (Revuelta et al., 2011).

Later, it was shown that in different systematic insect groups, the first or second AChE form may be responsible for the acetylcholine hydrolysis (Lu et al., 2012; Kim et al., 2013, Pang, 2014). Insect acetylcholinesterase is a target for effective and environmentally safe insecticides. Two enzyme forms extracted from the heads of 100 species belonging to 18 insect orders have been separated by native PAGE. Immunoblotting with form-specific antibodies (Abs) against conserved peptide fragments and AChE activity staining in gels has demonstrated that 67 insect species, including *L. decemlineata* and other beetles, predominantly expressed AChE1 and 33 species predominantly expressed the AChE2 enzyme. One of the results of this study is a discrepancy between results of Western blotting and enzyme activity staining. In most samples, Abs has recognized major bands corresponding to both enzyme forms. However, only one of them often demonstrates AChE activity (Kim et al., 2013).

In order to continue the comparative analysis of AChE forms of CPB we have overexpressed LdAChE1 and LdAChE2 in bacteria *Escherichia coli*, produced form-specific polyclonal Abs and have compared the content of two proteins in the tissues of adult insects.

Materials and methods

DNA constructs

Fat bodies and ventral nerve cords were isolated from *L. decemlineata* adults and total RNA was extracted using Trizol reagent (Thermo Fisher Scientific, MA). Synthesis of cDNA was carried out for 1 h at 37 °C in PCR tubes with 20 µl of the reaction mixture containing 2.5 µg RNA, 10 mM Tris-Cl (pH 8.8), 50 mM KCl, 5 mM MgCl₂, 1 mM of each dNTP, 1 µg oligo (dT) as a primer, 200 U of RevertAid M-MuLV-reverse transcriptase (Thermo Fisher Scientific) and 5 U of RNAase inhibitor (Thermo Fisher Scientific). At the following step, the mixture was heated at 95 °C for 5 min and 1 µl was used for PCR with Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific). The gene of LdAChE1 (GenBank ID: JF343436.1 and XM_023156211.1) was amplified with forward gtacCTCGAGATGACRACAACGCTACGAGTATTCTG (*XhoI* site is underlined) and reverse agggGAATTCTTACTGGTAGCGTTTCCATCCAATTC (*EcoRI* site and stop codon are underlined) primers. The forward primer gagaCTCGAGATGGGCCAGCTTTCGATCCTGTGCT (*XhoI* site is underlined) and reverse primer agggGAATTCCTACAAAGCGTTAAGTAGTGTCATG (*EcoRI* site and stop codon are underlined) were used for PCR-amplification of DNA fragment encoding LdAChE2 (GenBank ID: L41180.1). The PCR products were gel purified, digested with *XhoI/EcoRI* restriction enzymes, and inserted into the pRSETa vector (Thermo Fisher Scientific) linearized by the same enzymes. About 750 bp of both constructed plasmids were sequenced using T7 forward and reverse primers to verify the correct amplification and insertion of protein-encoding fragments.

Heterologous expression and analysis of LdAChEs in *E. coli*

To express LdAChEs, *E. coli* BL21(DE3)-derived C41 cells (Miroux, Walker, 1996) were electroporated by obtained constructs at 1700 V using Electroporator 2510 (Eppendorf, Germany). Bacterial colonies from agar plates with LB medium containing 0.15 mg/ml ampicillin were inoculated into flasks with 25 ml of the same liquid medium. The cultures were grown to OD₆₀₀ 0.6 and expression was induced by the addition of 0.2 mM IPTG (final concentration) with the following incubation for 15 h at 25 °C.

After cultivation, bacterial cells were pelleted by centrifugation at 3 000 g for 10 min and sonicated in 1 ml of 50 mM Tris-Cl buffer solution (TB, pH 7.5). To analyze whether LdAChEs accumulates in bacteria in soluble form or as insoluble inclusion bodies, homogenates were centrifuged at 14 000 g for 15 min and 0.1 ml of supernatants and pellets resuspended in TB to homogenate volume were used to prepare the samples for SDS-PAGE. The rest of the pellets were used to isolate the recombinant AChEs forming insoluble inclusion bodies (IBs). The upper layer of the pellets (bacterial membranes) was removed by careful pipetting and the lower white layer of IBs significantly enriched in the recombinant proteins was washed in TB.

To assay solubility of recombinant enzymes in the presence of 8 M urea, IBs isolated from 0.2 ml of bacterial homogenate were resuspended in 0.25 ml of TB containing 8 M urea, incubated for 10 min, centrifuged at 14 000 g for 5 min and supernatants and pellets resuspended in TB to supernatant volume were also analyzed by SDS-PAGE.

Production of polyclonal Abs

To get recombinant antigens for rabbit immunization, heterologous expression of LdAChEs was repeated in 250 ml of LB medium. In the case of LdAChE1 expression, we increased IPTG final concentration in the culture medium to 0.5 mM (instead of 0.2 mM) and cultivation temperature to 37 °C (instead of 25 °C). Isolated IBs were carefully washed in TB with 8M urea, dissolved in sample buffer for SDS-PAGE at 95 °C for 15 min, carefully dialyzed against TBS (50 mM Tris-Cl pH 7.4, 150 mM NaCl) and used for production and purification of polyclonal Abs using previously described methods (Dolgikh et al., 2009).

Preparation of CPB protein samples

L. decemlineata guts, fat bodies, flight muscles and ventral nerve cords of eight adults were isolated, homogenized in 0.3 ml of TB with 0.5 mM PMSF (phenylmethylsulfonyl fluoride) and heated in sample loading buffer for SDS-PAGE. To pellet cells, hemolymph of these beetles was centrifuged at 3 000 g for 15 min and supernatant (plasma) was used for sample preparation. In other experiments, fat bodies of ten CPB adults

were homogenized on ice in 2.5 ml of TB with 0.5 mM PMSF and centrifuged at 1 000 g for 15 min to pellet rude debris. The supernatant was carefully removed and centrifuged at 30 000g for 15 min at 4 °C. The pellet was dissolved in the equal volume of TB with 0.5 mM PMSF, 0.5% Triton X-100 for 2 min and centrifuged again at the same rate. The both supernatants, rude debris and precipitate after Triton X-100 extraction resuspended in TB with 0.5 mM PMSF to homogenate volume were analyzed by immunoblotting.

SDS-PAGE and immunoblotting

The samples by SDS-PAGE were heated at 95 °C for 10 min with one fifth of the volume of 6 × sample buffer containing 375 mM Tris-Cl (pH 6.8), 12% SDS, 6% 2-mercaptoethanol and 60% glycerol. 5 µl of protein samples were separated by SDS-PAGE in 12% or in 4–20% gradient gels, transferred on nitrocellulose membrane and stained with Ponceau S. Immunoblotting with rabbit polyclonal Abs and monoclonal antibodies against polyHis sequence was performed as previously described (Dolgikh et al., 2009; Dolgikh et al., 2019).

Results

The isolation of RNA from *L. decemlineata* fat bodies and ventral nerve cords followed by cDNA synthesis with oligo-dT primer allowed us to amplify two DNA fragments about 1900 bp in size and to clone them in pRSETa vector (Fig. 1). Sequencing of their 3'- and 5'- regions (about 750 bp) demonstrated identity with the LdAChEs genes as well as confirmed correct insertion into the expression vector.

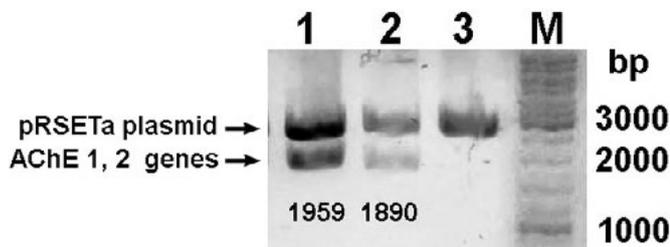


Fig. 1. Restriction analysis of constructs after inserting of genes encoding LdAChE1 (lane 1) and LdAChE2 (lane 2) into pRSETa vector followed by agarose gel analysis. Plasmids were digested by XhoI / EcoRI restriction enzymes. Lane 3 – linearized vector without any insert. The size of the insertion corresponding to the AChE2 gene (1890 bp) is slightly smaller than the size of the insertion corresponding to the AChE1 gene (1959 bp)

Transformation of C41 *E. coli* cells by these constructs, heterologous expression, sonication of bacteria and centrifugation of homogenates followed by SDS-PAGE analysis and immunoblotting with anti-polyHis Abs demonstrated accumulation of both recombinant LdAChEs in the form of insoluble IBs. More effective production of recombinant product was observed, in case of LdAChE2. LdAChE1 protein band showed a slightly higher molecular weight (66–65 kDa) compared to LdAChE2 (about 64 kDa) (Fig. 2A).

Centrifugation of sonicated bacteria, removal of the upper pellet layer of bacterial membranes by careful pipetting and

repeating this procedure enabled us to isolate IBs enriched in the expressed proteins. Resuspending of isolated IBs in TB with 8M urea showed that the most part of both recombinant enzymes was not solubilized by this chaotropic agent (Fig. 2B). At the same time, very poorly soluble with 8M urea recombinant LdAChEs were completely dissolved during heating in sample loading buffer for SDS-PAGE containing SDS and 2-mercaptoethanol. Proteins solubilized in the sample buffer were carefully dialyzed and used for rabbit immunization, immune sera raising and purification of specific Abs.

Preparation of samples from five organs and tissues of CPB adults followed by their immunoblotting with Abs against two forms of LdAChEs demonstrated specific recognition of single protein bands of about 70–75 kDa (Fig. 3).

An interesting result of this experiment was a lower intensity of LdAChE1 staining by specific Abs compared to LdAChE2 in the same samples. The most distinctions were observed in fat body and nerve cord samples. This result was not due to different sensitivities of the produced Abs. Firstly, approximately the same level of immunolabeling by two types of Abs was found in the insect gut samples. Secondly, anti-LdAChE1 Abs effectively stained the recombinant form of this enzyme (Fig. 4).

Centrifugation of fat body homogenate followed by extraction of membrane fraction with 0.5% Triton X-100 showed that a significant part of LdAChE2 was localized in the membrane fraction and could be effectively extracted by this nonionic detergent (Fig. 5).

In case of LdAChE1, the enzyme band was found in rude debris, as well as in soluble fraction, but not in the membrane fraction. This experiment also confirmed the accumulation of significantly larger amounts of LdAChE2 in beetle fat bodies in comparison with LdAChE1. Separation of proteins in a 4–20% gradient gel showed that the proteins differ in size and produced Abs did not show a cross reactivity.

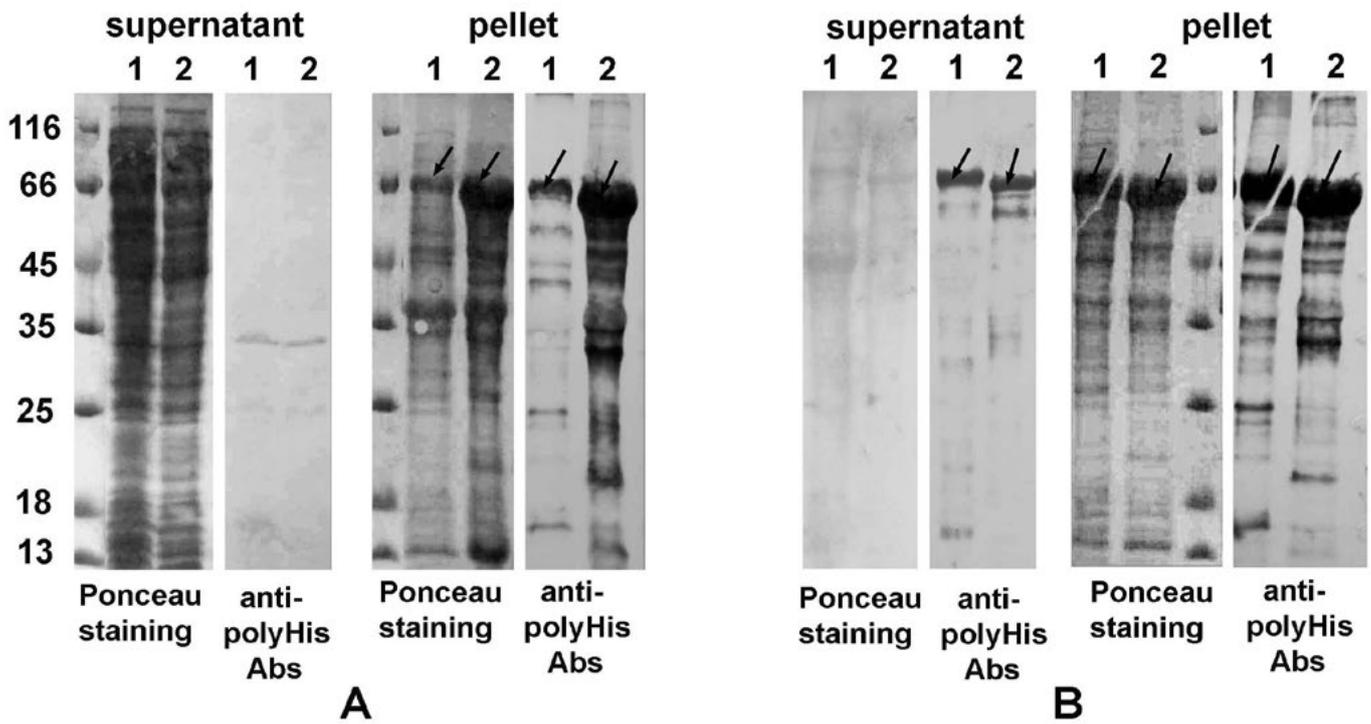


Fig. 2. Immunoblotting of recombinant LdAChE1 (lanes 1) and LdAChE2 (lanes 2) expressed in *E. coli* with anti-polyHis Abs. A. Bacteria after expression were sonicated in TB and centrifugation of homogenate was followed by immunoblotting of supernatants and pellets resuspended in TB to homogenate volume. B. Treatment of isolated IBs with 8 M urea was followed by centrifugation and immunoblotting of supernatants and pellets resuspended in TB to supernatant volume. Proteins separated by SDS-PAGE were transferred on nitrocellulose membrane, stained with Ponceau S and analyzed by immunoblotting with anti-polyHis Abs conjugated with horseradish peroxidase. Recombinant enzymes are indicated by arrows

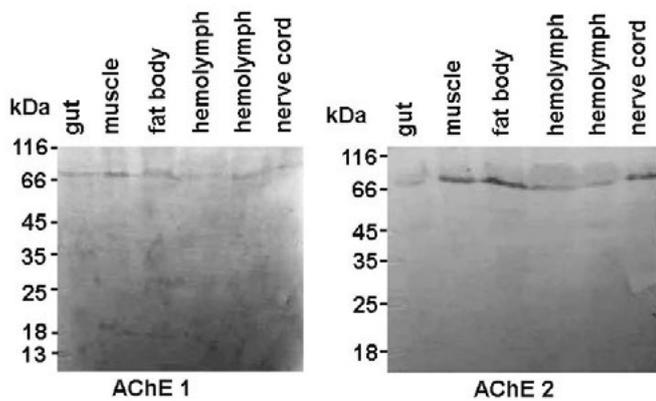


Fig. 3. Immunoblotting of protein samples of five *L. decemlineata* adult organs with anti-AChE1 and anti-AChE2 Abs

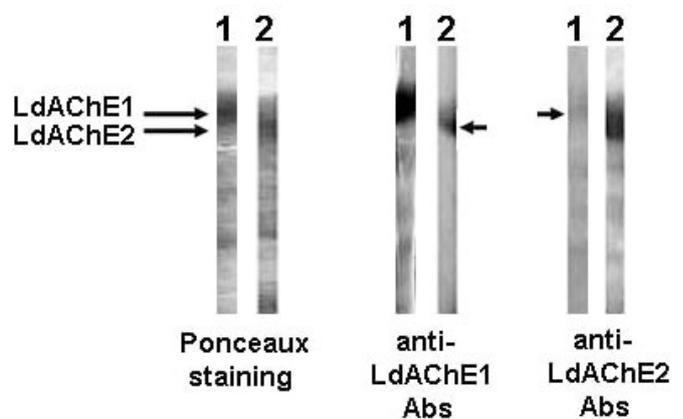


Fig. 4. Immunoblotting of recombinant LdAChE1 (lanes 1) and LdAChE2 (lanes 2) with produced polyclonal Abs. Recombinant proteins are noted by arrows

Discussion

In this study we cloned DNA fragments encoding full-size LdAChEs and expressed them in bacteria *E. coli*. As it was expected, SDS-PAGE analysis of recombinant proteins showed slightly higher molecular weight of LdAChE1 (65–66 kDa) compared to LdAChE2 size (about 64 kDa). However, both of these values were lower than the predicted size of the enzymes (73 kDa and 71 kDa respectively). At the same time, immunoblotting of CPB proteins with anti-LdAChE1 and anti-LdAChE2 Abs demonstrated a larger size of both natural proteins (70–75 kDa) compared with those expressed in bacteria. Since the proteins produced in *E. coli* had an additional 4 kDa tag, the net size difference between recombinant and native forms of LdAChEs seemed to be even

greater. Moreover, N-terminal signal peptide responsible for the secretion of AChEs should be removed in the mature forms of both enzymes in insect cells. The higher molecular weight of natural forms of LdAChEs may be explained by their glycosylation, which is typical for the human enzyme (Velan et al., 1993) and requires further study. Since electrophoretic mobility of LdAChE2 with predicted size 71 kDa was lower than the mobility of 73 kDa LdAChE1, the first enzyme may contain more carbohydrate residues.

The absence of cross-reactivity between anti-LdAChE1 and anti-LdAChE2 Abs was expected because two forms demonstrate only 37% of amino acid sequence identity. Linkage of *D. melanogaster* AChE to membranes via

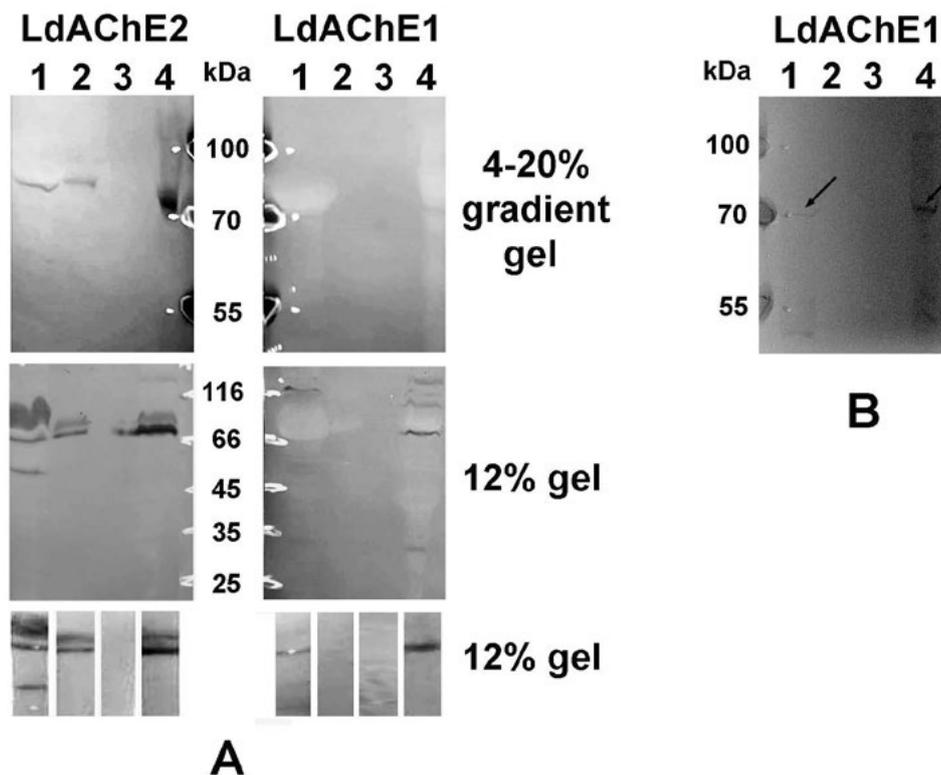


Fig. 5. Immunoblotting of *L. decemlineata* fat body proteins with Abs against LdAChEs. Lane 1 – supernatant of fat body homogenate centrifuged at 30 000 g for 15 min. Lane 2 – supernatant after extraction of pelleted membranes with 0.5% Triton X-100 and re-centrifugation. Lane 3 – pellet after extraction of membranes and re-centrifugation. Lane 4 – residue pelleted by clarification of the original homogenate at 1000 g for 15 min. Both pellets (lanes 3,4) were resuspended in TB to homogenate volume before sample preparation. A. Fat body proteins were separated by SDS-PAGE in 4–20% gradient or 12% gels and analyzed by immunoblotting. B. To visualize minor bands, the image of proteins separated in gradient gel and labeled with anti-LdAChE1 Abs was contrasted

a glycolipid anchor (Fournier et al., 1992; Incardona, Rosenberry, 1996) is consistent with membrane localization of its ortholog LdAChE2.

Despite the fact that LdAChE2 was considered as the target for many insecticides for a long time, discovery of the second enzyme form (Revuelta et al., 2011) changed this view. The higher level of LdAChE1 gene expression in *L. decemlineata* embryos, larvae and adults, stronger effect of its RNAi on total AChE activity and insect mortality confirmed an essential role of LdAChE1 in CPB physiology (Revuelta et al., 2011). Later, The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. 0483-2019-0001).

Kim and co-authors demonstrated that AChE1 was the main catalytic enzyme in heads of *L. decemlineata*, other beetles, and most other insect groups (Kim et al., 2013). A comparison of these data with the results of our study, demonstrating a lower content of LdAChE1 in *L. decemlineata* tissues, suggests the need for new studies using form-specific Abs. Heterologous expression of both AChE forms in insect cell cultures, immunoaffinity purification of natural enzymes from CPB tissues should help to evaluate the role of both enzymes in physiology of the pest and in its resistance to insecticides.

References

- Alyokhin A, Baker M, Mota-Sanchez D, Dively G, Grafius E (2008) Colorado potato beetle resistance to insecticides. *Am J Pot Res* 85: 395–413. <https://www.doi.org/10.1007/s12230-008-9052-0>
- Dolgikh VV, Seliverstova EV, Naumov AM, Senderskiy IV, Pavlova OA, Beznoussenko GV (2009) Heterologous expression of pyruvate dehydrogenase E1 subunits of the microsporidium *Paranosema (Antonospora) locustae* and immunolocalization of the mitochondrial protein in amitochondrial cells. *FEMS Microbiol Lett* 293:285–291. <https://www.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01545.x>
- Dolgikh VV, Tsarev AA, Timofeev SA, Zhuravlyov VS (2019) Heterologous overexpression of active hexokinases from microsporidia *Nosema bombycis* and *Nosema ceranae* confirms their ability to phosphorylate host glucose. *Parasitol Res* 118, 1511–1518. <https://www.doi.org/10.1007/s00436-019-06279-w>
- Fournier D, Bride JM, Hoffmann F, Karch F (1992) Acetylcholinesterase. Two types of modifications confer resistance to insecticide. *J Biol Chem* 267:14270–14274
- Harel M, Kryger G, Rosenberry TL, Mallender WD, Lewis T, Fletcher RJ, Guss JM, Silman I, Sussman JL (2000) Three-dimensional structures of *Drosophila melanogaster* acetylcholinesterase and of its complexes with two potent inhibitors. *Protein Sci* 9:1063–1072. <https://doi.org/10.1110/ps.9.6.1063>
- Hall LMC, Spierer P (1986) The Ace locus of *Drosophila melanogaster*: structural gene for acetylcholinesterase with an unusual 5' leader. *EMBO J* 5:2949–2954. doi: 10.1111/j.1574-6968.2009.01545.x.
- Huchard E, Martinez M, Alout H, Douzery EJ, Lutfalla G, Berthomieu A, Berticat C, Raymond M, Weill M (2006). Acetylcholinesterase genes within the Diptera: takeover and loss in true flies. *Proc Biol Sci* 273: 2595–2604 <https://www.doi.org/10.1098/rspb.2006.3621>
- Incardona JP, Rosenberry TL (1996) Replacement of the glycoinositol phospholipid anchor of *Drosophila* acetylcholinesterase with

- a transmembrane domain does not alter sorting in neurons and epithelia but results in behavioral defects. *Mol Biol Cell* 7:613–630. <https://doi.org/10.1091/mbc.7.4.613>
- Kim HJ, Dunn JB, Yoon KS, Clark JM (2006) Target site insensitivity and mutational analysis of acetylcholinesterase from a carbofuran-resistant population of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Pestic Biochem Phys* 84:165–179. <https://www.doi.org/10.1016/j.pestbp.2005.07.006>
- Kim YH, Lee SH (2013) Which acetylcholinesterase functions as the main catalytic enzyme in the Class Insecta? *Insect Biochem Mol Biol* 43:47–53. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.11.004>
- Lu Y., Pang YP, Park Y, Gao X, Yao J, Zhang X, Zhu KY (2012) Genome organization, phylogenies, expression patterns, and three-dimensional protein models of two acetylcholinesterase genes from the red flour beetle. *PLoS One* 7:e32288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032288>
- Malekmohammadi M, Hejazi MJ, Mossadegh MS, Galehdari H, Khanjani M, Goodarzi MT (2012) Molecular diagnostic for detecting the acetylcholinesterase mutations in insecticide-resistant populations of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Pestic Biochem Phys* 104:150–156. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.06.004>
- Miroux B, Walker JE (1996) Over-production of proteins in *Escherichia coli*: mutant hosts that allow synthesis of some membrane proteins and globular proteins at high levels. *J Mol Biol* 260:289–298. www.doi.org/10.1006/jmbi.1996.0399
- Pang YP (2014). Insect acetylcholinesterase as a target for effective and environmentally safe insecticides. *Adv Insect Physiol* 46: 435–494. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417010-0.00006-9>
- Revuelta L, Ortego F, Díaz-Ruiz JR, Castañera P, Tenllado F, Hernández-Crespo P (2011) Contribution of Ldace1 gene to acetylcholinesterase activity in Colorado potato beetle. *Insect Biochem Mol Biol* 41:795–803 <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2011.06.001>
- Toutant JP (1989) Insect acetylcholinesterase: catalytic properties, tissue distribution and molecular-forms. *Prog Neurobiol* 32: 423–446. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(89\)90031-2](https://doi.org/10.1016/0301-0082(89)90031-2)
- Velan B, Kronman C, Ordentlich A, Flashner Y, Leitner M, Cohen S, Shafferman A (1993) N-glycosylation of human acetylcholinesterase: effects on activity, stability and biosynthesis. *Biochem J* 296: 649–656. <https://doi.org/10.1042/bj2960649>
- Villatte F, Bachmann TT, (2002) How many genes encode cholinesterase in arthropods? *Pestic Biochem Phys* 73:122–129. [https://doi.org/10.1016/S0048-3575\(02\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0048-3575(02)00002-0)
- Weill M, Fort P, Berthomieu A, Dubois MP, Pasteur N, Raymond M (2002) A novel acetylcholinesterase gene in mosquitoes codes for the insecticide target and is non-homologous to the ace gene in *Drosophila*. *Proc Royal Soc* 269:2007–2016. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2122>
- Yao H, Chuanling Q, Williamson MS, Devonshire AL (1997) Characterization of the acetylcholinesterase gene from insecticide-resistant houseflies *Musca domestica*. *Chin J Biotechnol* 13:177–183
- Zhu KY, Clark JM (1995) Cloning and sequencing of a cDNA encoding acetylcholinesterase in Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). *Insect Biochem Mol Biol* 25:1129–1138. [https://doi.org/10.1016/0965-1748\(95\)00055-0](https://doi.org/10.1016/0965-1748(95)00055-0)

Вестник защиты растений, 2020, 103(2), с. 144–149

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13291>

Полнотекстовая статья

ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ЭКСПРЕССИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА *LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* В БАКТЕРИЯХ *ESCHERICHIA COLI* И ПОЛУЧЕНИЕ АНТИТЕЛ К ОТДЕЛЬНЫМ ФОРМАМ ФЕРМЕНТА

В.В. Долгих*, И.В. Сендерский, В.С. Журавлев, С.А. Тимофеев, Ю.В. Володарцева, С.Р. Фасулати, Д.С. Киреева

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: dol1slav@yahoo.com

Колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* является широко распространенным вредителем пасленовых (сем. Solanaceae). Огромный экономический ущерб, вызываемый этим видом по всему миру, усиливается способностью *L. decemlineata* приобретать устойчивость к основным классам инсектицидов. Ранее такую устойчивость связывалась с мутациями в гене, кодирующим LdAChE2 – ортолог ацетилхолинэстеразы *Drosophila melanogaster*. Однако обнаружение у колорадского жука и многих других видов насекомых второй формы фермента LdAChE1 заставило пересмотреть эти представления. С целью сравнения роли двух форм ацетилхолинэстеразы в физиологии колорадского жука и его устойчивости к инсектицидам, кДНК копии обоих генов были клонированы и экспрессированы в *E. coli*. Иммуноблоттинг с поликлональными антителами против выделенных рекомбинантных белков показал отсутствие перекрестной реакции, более низкое содержание LdAChE1 в тканях имаго колорадского жука по сравнению со второй формой и ассоциацию LdAChE2 с мембранами. В дальнейшем планируется использовать полученные антитела для иммуноаффинной очистки природных форм фермента из тканей жука, а также после экспрессии активных форм в культуре клеток насекомых. Это поможет в оценке роли LdAChE1 и LdAChE2 в физиологии вредителя и в приобретении им устойчивости к инсектицидам.

Ключевые слова: колорадский жук, *Leptinotarsa decemlineata*, ацетилхолинэстераза, гетерологичная экспрессия, поликлональные антитела, иммуноблоттинг

Поступила в редакцию: 01.05.2020

Принята к печати: 28.05.2020

**DIFFERENTIAL SUSCEPTIBILITY OF *LOCUSTA MIGRATORIA*
AND *SCHISTOCERCA GREGARIA* (ORTHOPTERA: ACRIDIDAE)
TO INFECTION WITH ENTOMOPATHOGENIC FUNGI**

M.V. Levchenko, A.G. Kononchuk*, A.V. Gerus, G.R. Lednev

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

**corresponding author, e-mail: kononchuk26@yandex.ru*

The migratory locust *Locusta migratoria* and the desert locust *Schistocerca gregaria* are widespread species deleterious for agriculture and numerous efforts are aimed at development of effective and ecologically safe means to control these pests. Testing conidial suspension of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* and *Metarhizium robertsii* showed high mortality of both locust species reaching 95–100% in 5 and 11 days post treatment in first and third instar nymphs, respectively. The dynamics of mortality caused by the three fungal strains differed between *L. migratoria* and *Sch. gregaria*, demonstrating lower levels of susceptibility of the former species as compared to the latter one. Since desert locust inhabits arid, dry biotopes where probability of contacts with fungal pathogens should be lower, it is hypothesized can be assumed that higher vulnerability in this species would be substantiated by the absence of natural selection for resistance to fungal parasite.

Keywords: *Beauveria*, *Metarhizium*, Acrididae, infection, resistance

Received: 15.02.2020

Accepted: 24.03.2020

Locusts are notorious agricultural pests around the world (Latchininsky et al., 2011). Biological means are being extensively developing for locust control as an alternative to chemical pesticide application (Lomer et al., 2001). Ascomycetes of the genera *Metarhizium* and *Beauveria* are the most important agents of locust biocontrol (Faria, Wright, 2007). Interactions of insect parasitic fungi with Acrididae is therefore of great interest for understanding of the mechanisms underlying efficacy of microbial formulations. Susceptibility of target insects to the agents of fungal diseases may significantly vary depending upon numerous factors affecting the efficacy of biological control. In the present paper, we compared susceptibility of two species of acridid locusts to the three species of entomopathogenic fungi at different fungal conidia dosage and insect age.

Pure cultures of *Beauveria bassiana* BBK-1 isolated from *Calliptamus italicus* (Novosibirsk region, Russia 2000), *Beauveria brongniartii* BT-86 – from *Dociostaurus maroccanus* (Karakalpakstan, Uzbekistan, 1986) and *Metarhizium anisopliae* MAK-1 – from *C. italicus* (Novosibirsk region, 2000) were grown on solid Sabouraud agar until mass conidial sporulation and conidial suspensions in distilled water were adjusted to 5×10^6 , 10^7 or 5×10^7 conidia/mL. Laboratory cultures of *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria* (Orthoptera, Acrididae) were maintained continuously for about a hundred and thirty generations, respectively, at the Department of Entomology at the Moscow Zoo (Russia). Fresh egg masses were transported from Moscow to the laboratory in St. Petersburg and kept at 30–35 °C until hatching. Newly hatched locust nymphs were fed with fresh wheat and a mixture of wheat bran and powder milk provided *ad libitum*. Two-three days after hatching, first instar nymphs were infected by immersion for 5 sec into the suspension of fungal conidia (Tokarev et al., 2011) transferred to plastic containers and fed with fresh wheat. Suspensions of 5×10^6 and 10^7 conidia/mL were used for the first instar nymphs. Additionally, third instar nymphs (2–3 days after the second molt) were infected as above using the suspensions of 5×10^6 , 10^7 and 5×10^7 conidia/

mL. Distilled water was used as control. Treated nymphs were maintained in 0.5 L plastic cages, 5 insects per cage, at 30 °C and constant light. Each treatment included 4 replicates, i.e. 20 insects per treatment. Locust mortality was checked daily until 95–100% level was reached in fungi-treated groups, perished nymphs were placed on a glass slide in a Petri Dish with a moistened filter paper to observe fungal sporulation on cadaver surface. Least significant difference was estimated using one way ANOVA analyses (t-test and limit significant difference $LSD_{0.05}$).

Fungi killed 85–100% of the first instar locust nymphs within first 5 days and 7 days post treatment (d.p.t.), mortality reached 100% in all fungi-treated groups. However, there was a difference in mortality dynamics between the locust species, most notable at 4 d.p.t. By that time, mortality was lower in *L. migratoria* as compared to *Sch. gregaria* in all the treatments. The most prominent difference was between the two species treated with the fungi at the concentration of 5×10^6 conidia/mL: $25.0 \pm 9.6\%$ (mean \pm standard error) vs $80.0 \pm 8.2\%$ in BBK-1, $20.0 \pm 8.2\%$ vs $75.0 \pm 12.6\%$ in BT-86 and $25.0 \pm 9.6\%$ vs $65.0 \pm 15.0\%$ in MAK-1 treatment. Mortality in desert locust was 2.6–3.7 times as high as compared to migratory locust and all the differences were significant at $p < 0.05$. In 10^7 conidia/mL treatment, mortality from three fungal species in desert locust was only ~1.5 times higher than in migratory locust (Table 1) and the difference was significant ($p < 0.05$) only in the case of the BBK-1 application.

When third instar nymphs were assayed, 80–100% and 95–100% mortality levels were reached at 9 and 11 d.p.t., respectively, reflecting lower susceptibility to fungal pathogens in elder instars. As in first instar nymphs, before reaching the maximal level, mortality was higher in desert locust as compared to the migratory locust. In particular, at minimal concentration used (5×10^6 conidia/mL), all three fungal species caused significantly higher mortality ($p < 0.05$) in desert locust at 7 d.p.t. At higher concentrations, significant differences in locust species susceptibility were also observed, including BBK-1 with concentration of 5×10^7 conidia/mL at

3 d.p.t., BT-86 with concentration of 5×10^7 conidia/mL at 3–7 d.p.t. and MAK-1 with concentration of 10^7 conidia/mL at 3–7 d.p.t. In all the cases, higher mortality was observed in *Sch. gregaria*. (Table 2)

Natural conditions of preferable habitats of *L. migratoria* and *Sch. gregaria* are remarkably different. The migratory locust prefers reed stands on the sides of large water bodies, such as the delta of the river Volga at the Caspian Sea in Russia or Lake Balkhash in Kazakhstan. The temperature optimum for the development of this species is about 26–28°C. These conditions are optimal for fungi development. It can be

therefore expected that probability of locust contact with fungi under such conditions is high substantiating selection for resistance. Conversely, desert locust is known to occur in more arid biotopes, such as deserts, and optimal temperature for its development is 30°C (Gündüz and Gülel, 2002). We therefore assume that natural contacts of this species with entomopathogenic fungi are less frequent and selection for resistance is less probable as compared to migratory locust. This may explain the difference in susceptibility to fungal infection found in the present study.

Table 1. Mortality of first instar nymphs of *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria* treated with *Beauveria bassiana* (BBK-1), *Beauveria brongniartii* (BT-86) and *Metharizium anisopliae* (MAK-1)

Treatment	Dosage, conidia/mL	Insect species	Mortality, %±SE, days post treatment				
			3	4	5	6	7
BBK-1	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	25.0±9.6	25.0±9.6*	85.0±5.0	95.0±5.0	100
		<i>Sch. gregaria</i>	25.0±5.0	80.0±8.2	100	100	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	30.0±12.9	60.0±8.2*	100	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	35.0±15.0	90.0±5.8	100	100	100
BT-86	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	15.0±5.0*	20.0±8.2*	85.0±9.6	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	40.0±21.6	75.0±12.6	100	100	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	50.0±23.8	55.0±22.2	90.0±5.8	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	35.0±9.6	85.0±9.6	100	100	100
MAK-1	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	10.0±2.5	25.0±5.0*	85.0±9.6	85.0±9.6	100
		<i>Sch. gregaria</i>	10.0±5.8	65.0±15.0	90.0±5.8	95.0±5.0	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	20.0±20.0	55.0±15.0	85.0±15.0	95.0±5.0	100
		<i>Sch. gregaria</i>	40.0±23.1	75.0±9.6	100	100	100
Control		<i>L. migratoria</i>	0.0	0.0	0.0	5.0±5.0	10.0±5.8
		<i>Sch. gregaria</i>	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0±5.0
LSD _{.05}			20.12	30.07	20.11	30.03	17.52

SE – standard error; LSD – least significant difference. Asterisks indicate mortality values significantly different between two host species.

Table 2. Mortality of third instar nymphs of *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria* treated with *Beauveria bassiana* (BBK-1), *Beauveria brongniartii* (BT-86) and *Metharizium anisopliae* (MAK-1)

Treatment	Dosage, conidia/mL	Insect species	Mortality, %±SE, days post treatment				
			3	5	7	9	11
BBK-1	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	0.0	25.0±9.6	55.0±9.6*	85.0±15	95.0±5.0
		<i>Sch. gregaria</i>	10.0±5.8	40.0±8.2	80.0	85.0±5.0	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	5.0±5.0	20.0±0.0	75.0±15.0	95.0±5.0	100
		<i>Sch. gregaria</i>	0.0	30.0±5.8	70.0±5.8	100	100
	5×10^7	<i>L. migratoria</i>	0.0*	40.0±8.2	80.0±11.5	95.0±5.0	100
		<i>Sch. gregaria</i>	15.0±9.6	55.0±5.0	95.0±5.0	100	100
BT-86	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	0.0	25.0±9.6	75.0±5.0*	85.0±5.0	100
		<i>Sch. gregaria</i>	5.0±5.0	45.0±9.6	95.0±5.0	100	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	0.0*	45.0±9.6	70.0±12.9*	90.0±5.8	100
		<i>Sch. gregaria</i>	35.0±5.0	70.0±12.9	85.0±9.6	100	100
	5×10^7	<i>L. migratoria</i>	0.0	30.0±10.0*	70.0±5.8*	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	20.0±8.2	60.0±8.2	100	100	100
MAK-1	5×10^6	<i>L. migratoria</i>	15.0±5.0	20.0±8.2	25.0±5.0*	80±8.2	95.0±11.5
		<i>Sch. gregaria</i>	5.0±5.0	30.0±15.0	60.0±8.2	100	100
	1×10^7	<i>L. migratoria</i>	5.0±5.0*	45.0±15.0*	85.0±15.0*	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	20.0±8.2	85.0±9.6	100	100	100
	5×10^7	<i>L. migratoria</i>	0.0	55.0±9.6*	90.0±5.8	100	100
		<i>Sch. gregaria</i>	10.0±10.0	95.0±5	100	100	100
Control		<i>L. migratoria</i>	0.0	0.0	5.0±5.0	25.0±5.0	35.0±5.0
		<i>Sch. gregaria</i>	0.0	0.0	10.0±5.8	25.0±5.0	30.0±5.8
LSD _{.05}			14.26*	20.88	14.26	20.88	22.36

Abbreviations and indications as in Table 1.

The data obtained are in accordance with the preliminary studies of Kassa et al. (2004) which assayed another ascomycete fungus, *Metarhizium acridum*, against two locust hosts: *L. migratoria* and *Cryptocatantops haemorrhoidalis* (Krauss). The

latter species, which also prefers arid biotopes (similarly to *Sch. gregaria*), displayed significantly higher susceptibility to the fungus, and this observation is in agreement with our hypothesis.

The work was supported by the Russian Foundation of Basic Research, project # 18-316-00082-mol_a and # 20-016-00263.

References

- De Faria MR, Wright SP (2007) Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol Control* 43(3):237–256. <http://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.08.001>
- Gündüz NEA, Gülel A (2002) Effect of temperature on development, sexual maturation time, food consumption and body weight of *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera: Acrididae). *Turkish J Zool* 26:223–227
- Kassa A, Stephan D, Zimmermann G, Vidal S (2001) Field evaluation of different formulations of mycoinsecticides for the control of *Cryptocatantops haemorrhoidalis* and *Locusta migratoria* in Niger. Abstr. 34th S.I.P. Annual Meeting. 1–85
- Latchininsky A, Sword G, Sergeev M, Cigliano MM et al (2011) Locusts and grasshoppers: behavior, ecology, and biogeography. *Psyche: J Entomol* 4 <http://doi.org/10.1155/2011/578327>
- Lomer CJ, Bateman RP, Johnson DL, Langewald J et al (2001) Biological control of locusts and grasshoppers. *Ann Rev Entomol* 46:667–702. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.667>
- Tokarev YS, Levchenko MV, Naumov AM, Senderskiy IV, Lednev GR (2011) Interactions of two insect pathogens, *Paranosema locustae* (Protista: Microsporidia) and *Metarhizium acridum* (Fungi: Hypocreales), during a mixed infection of *Locusta migratoria* (Insecta: Orthoptera) nymphs. *J Invertebr Pathol* 106:336–338. <http://doi.org/10.1016/j.jip.2010.09.019>

Вестник защиты растений, 2020, 103(2), с. 150–152

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13364>

Краткое сообщение

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ВОСПРИИМЧИВОСТЬ *LOCUSTA MIGRATORIA* И *SCHISTOCERCA GREGARIA* (ОРТХОПТЕРА: АCRIDIDAE) К ЗАРАЖЕНИЮ ЭНТОМОПАТОГЕННЫМИ ГРИБАМИ

М.В. Левченко, А.Г. Конончук*, А.В. Герус, Г.Р. Леднев

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: kononchuk26@yandex.ru

Перелетная *Locusta migratoria* и пустынная *Schistocerca gregaria* саранча являются широко распространенными вредителями сельскохозяйственных культур. Разработка эффективных и экологически безопасных средств борьбы с ними является весьма перспективным направлением. Оценка биологической активности конидиальных суспензий энтомопатогенных грибов *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii* и *Metarhizium robertsii* показала высокую смертность у обоих видов саранчи – 95–100% через 5 и 11 дней после обработки у личинок первого и третьего возраста соответственно. Динамика смертности, вызванной тремя штаммами грибов существенно различалась у *L. migratoria* и *Sh. gregaria*, восприимчивости первого вида на более низкие уровни по сравнению со вторым. Поскольку пустынная саранча обитает в ксерофитных биотопах, где вероятность контактов с грибными патогенами может быть ниже, предполагается, что более высокая восприимчивость у этого вида будет подтверждена отсутствием естественного отбора на устойчивость к грибам.

Ключевые слова: *Beauveria*, *Metarhizium*, Acrididae, инфекция, устойчивость

Поступила в редакцию: 15.02.2020

Принята к печати: 24.03.2020

ПАМЯТИ О.Н. НАУМОВИЧА
IN MEMORY OF O.N. NAUMOVICH



7 мая 2020 года скорпостижно скончался Олег Николаевич Наумович, старший научный сотрудник, крупный ученый, акридолог, проработавший в ВИЗР 35 лет. С его именем связаны исследования по экологии, диагностике, мониторингу, прогнозированию и разработке мер борьбы с вредными саранчовыми.

О.Н. Наумович родился 29 марта 1949 года в г. Алма-Ата Казахской ССР, где его отец возглавлял областную станцию защиты растений. После окончания средней школы в 1966 году О.Н.Наумович поступил в Казахский сельскохозяйственный институт на лесохозяйственный факультет, а в 1969 году перевелся в Ленинградский сельскохозяйственный институт, который успешно закончил в 1973 году по специальности ученый агроном по защите растений.

В 1973 году после успешного завершения учебы в Ленинградском сельскохозяйственном институте он был принят на работу в ВИЗР, где четко определился его научный интерес как исследователя: изучение вредных саранчовых, особо опасных вредителей на территории СССР и сопредельных государств на южных границах нашей страны.

Благодаря полученным знаниям и большой работоспособности Олег Николаевич за короткий срок освоил методы исследований по экологии, диагностике этой сложной группы вредных насекомых, а также проведения широких полевых экспериментов по разработке современных методов мониторинга и борьбы с этими вредителями.

С 1976 года Олег Николаевич самостоятельно проводил научные исследования ландшафтно-популяционной структуры различных видов саранчовых, оптимизации стратегии и тактики противосаранчовых мероприятий в различных регионах нашей страны. Много внимания он уделял составлению ежегодных прогнозов распространения саранчовых по результатам работы экспедиций в

места резервации данных вредителей. Большой научный вклад Олег Николаевич внес в систематику саранчовых, описав 5 новых для науки видов.

Как признанный в научных кругах нашей страны и за рубежом специалист высокого уровня Олег Николаевич работал в качестве эксперта и руководителя экспедиции по вопросам борьбы с пустынной саранчой в Северо-Западной Африке и неоднократно направлялся в Тунис для изучения фауны саранчовых.

В последние годы О.Н. Наумович проводил разноплановые исследования динамики популяций итальянского пруса и разработке методов борьбы с ним в Поволжье, принимал активное участие в разработке ассортимента средств борьбы с саранчовыми. При его активном участии в полевых условиях было испытано более 30 препаратов на основе 19 действующих веществ из различных классов химических соединений, отличающихся спектром активности, механизмом, скоростью и длительностью действия. Много сил он отдал разработке барьерной технологии борьбы с саранчовыми, расселяющимися из мест резерваций на сельскохозяйственные угодья. По этому вопросу он выступал с сообщениями на семинарах, проводимых МСХ совместно с рядом зарубежных фирм, был соавтором нескольких методических руководств.

Благодаря профессионализму и высокой коммуникабельности Олега Николаевича были установлены тесные творческие контакты с рядом отечественных и зарубежных учреждений и Международным акридологическим центром СИРАД/ПРИФАС. Он неоднократно выступал с научными докладами на международных конференциях по саранчовым в США, Франции, Казахстане, а после ухода на пенсию продолжал контакты со специалистами филиалов Россельхозцентра, коллегами из Казахстана, Таджикистана, экспертом ФАО по саранчовым А. Лачинским и другими специалистами.

Всю свою сознательную жизнь, работая в ВИЗР, Олег Николаевич посвятил решению важнейшей государственной задачи: прогнозированию численности и разработке мер борьбы с вредными саранчовыми, одной из особо опасных групп вредителей сельскохозяйственных угодий в нашей стране. Все, кто знал Олега Николаевича, помнят его как прекрасного специалиста и ученого, увлеченного и преданного своей научной деятельности. Он останется в нашей памяти, прежде всего, замечательным, интеллигентным и высоко порядочным человеком с широким кругозором, что делало его интересным собеседником по различным вопросам, бескорыстным и преданным другом.

Олег Николаевич Наумович навсегда останется в нашей памяти, как Человек большой души, пользовавшийся заслуженным уважением и авторитетом среди отечественных и зарубежных коллег, друзей и близких. Другом, Коллегой и Соратником.

НАУКА КАК ЖИЗНЬ (К 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ П.Я. ГОЛОДРИГИ)

SCIENCE AS LIFE: TO THE 100TH ANNIVERSARY OF P.YA. GOLODRIGA



*Я смысл этой жизни вижу в том,
Чтоб, не жалея ни души, ни тела,
Идти вперед, любить и делать дело,
Себя не оставляя на потом.*

А. Макаревич

Трагические для отечественного виноградарства события, развернувшиеся в СССР с 1985 по 1991 годы, оборвали жизнь выдающегося советского ученого, виноградаря-селекционера с мировым именем П.Я. Голодриги в декабре 1986 года и самым непосредственным образом коснулись жизни нашей семьи. Одной из последних учениц Голодриги, сумевшей, вопреки всем постановлениям советского правительства, спасти и не дать разорить остатки коллекции П.Я. Голодриги, была моя родная тетя Костик Мария Антоновна, селекционер-виноградарь, кандидат сельскохозяйственных наук. Разбирая после ее смерти архивы и личные документы, я наткнулась на аккуратные (ученый, что скажешь) черновые наброски статьи, посвященной 100-летию со дня рождения ее дорогого Учителя, которое научный мир отметил в мае 2020 года. Напечатать и опубликовать ее Мария Антоновна не успела.

Костик М. А., выпускница биолого-химического факультета Орехово-Зуевского педагогического института, после пяти лет работы на Чукотке и Дальнем Востоке, устроилась старшим лаборантом в Никитский Ботанический сад в 1975 году. Она начала готовиться к поступлению в аспирантуру, выбрав объектом своей работы сирень, однако вскоре это растение признали предназначенным для культивирования в средней полосе России, научную деятельность в НБС по этому направлению закрыли, а вторую по величине (поле коллекции МГУ) коллекцию сирени расформировали.

В 1980 году Мария Антоновна поступает на работу в научно-производственное объединение «Магарач» в должности младшего научного сотрудника и начинает готовиться в аспирантуру по селекции винограда. Научным руководителем Марии Антоновны становится ученый с мировым именем, профессор Павел Яковлевич Голодрига,

с которым Мария Антоновна в соавторстве создает 7 новых сортов винограда и плодотворно работает вплоть до 1986 года.

Из черновики Костик М.А.: «В 1980–1986 годах мне посчастливилось работать под руководством П.Я. Голодриги в Предгорном опытном хозяйстве «Магарач». В отделе селекции под его началом бок о бок трудились генетики и виноградары, биофизики и биохимики, математики и инженеры. В основном это была молодежь, работу которой профессор П.Я. Голодрига направлял в нужное русло, делился своим богатым опытом, наставлял и радовался нашим успехам. Он очень любил людей, был душой нашего общества. В сезон все собирали материалы в полевых условиях, а зимой шла обработка собранного, работа с литературой, проводились лабораторные исследования. Полученные результаты обсуждались на конференциях, на которых часто выступали многие выдающиеся ученые страны. Наиболее напряженными были периоды гибридизации и собственно селекции. Павел Яковлевич очень тщательно разрабатывал планы гибридизации, терпеливо учил нас проводить отбор, селективировать гибридные формы, при этом объясняя, какие цели он преследовал при создании той или иной комбинации скрещивания, учил наблюдать, сравнивать, делать выводы. Его целеустремленность и воля мобилизовывали всех, кто трудился с ним рядом, и позволяли выполнять огромный объем исследований по селекции винограда. Его мечтой было создание идеального сорта винограда, этой идее была подчинена вся его жизнь. В это время в лаборатории под его руководством создаются высококачественные сорта сверхранного срока созревания (80–105 дней) – такие сорта, как «Гавририя», «Крымская Жемчужина», «Новоукраинский Ранний», «Сверхранный бессемянный Магарача» и другие. С 1983 по 1986 годы в Госсортоиспытание были переданы менее известные и распространенные сорта: «Спартавец Магарача», «Кентавр Магарача», «Тавквери Магарача», «Рислинг Магарача» и другие. В последующем все усилия были направлены на создание высококачественных сортов, устойчивых к филлоксере, милдью, серой гнили, оидиуму, морозу, засухе и т.д.. Было собрано огромное количество доноров разнообразных признаков со всего мира, создан комплексный инфекционный фон, через горнило которого проходил весь генофонд; организовано размножение и диагностика с помощью культуры «in vitro».

Стоит отметить, что на протяжении почти полутора вековой истории по созданию устойчивых сортов винограда трудились несколько поколений селекционеров разных стран, но испытания на устойчивость к филлоксере проводились только в Молдавии и в Крыму, в НПО «Магарач». Борьба с филлоксерой – давняя проблема виноградарей.

Еще в 1913 году площадь виноградников на Украине составляла 53,9 тысяч гектар, а уже в 1919 году из-за распространения филлоксеры виноградные насаждения сократились до 12,8 тысяч гектар. К слову сказать, первые устойчивые к филлоксере и грибным болезням сорта были получены П.Я. Голодригой и его учениками еще в конце 60-х годов 20-го века под названиями «Первый устойчивый Магарача» («Первенец Магарача») и «Подарок людям от Магарача» («Подарок Магарача»). По воспоминаниям некоторых ученых, приехавших в Крым в 80-е годы 20-го века, П.Я. Голодрига с удовольствием демонстрировал сорта и гибридные формы винограда, коих было великое множество и которые отличались высокой устойчивостью к болезням, хорошим качеством урожая и оптимальными срокам созревания. Павел Яковлевич так и говорил про них: «Это сорта будущего».

Увы, это будущее не наступило. 7 мая 1985 года Совет Министров СССР выпустил постановление «О мерах по преодолению пьянства и алкоголизма, искоренению самогоноварения», и в стране началась очередная антиалкогольная кампания. Как всегда бывает в таких случаях, вместе с водой выплеснули ребенка. Кому пришла идея увязать проблему пьянства в СССР с элитным виноградом Крыма, навсегда останется загадкой, но за время антиалкогольного «разгула» в Крыму было уничтожено 45 тысяч саженцев винограда, отечественный генофонд был фактически razoren. Не выдержав давления, уволенный с работы, преданный и униженный, ученый с мировым именем, доктор биологических наук, автор 23-х авторских свидетельств, почетный член всевозможных международных академий, в возрасте 66-ти лет Павел Яковлевич Голодрига ушел из жизни. Пропаганда по уничтожению генофонда винограда с участием средств массовой информации продолжалась, например, газета «Крымский комсомолец» от 24 декабря 1988 года писала: «...Качество вин и соков, полученных из этих сортов [имеются в виду «Подарок Магарача», «Юбилейный Магарача», «Антей Магарачский» и другие], значительно ниже, чем у европейских, традиционно выращиваемых в области...».

Из черновики Костик М.А.: «Очень важно не стирать границу между сказанным и сделанным, ложью и правдой. Можно приводить массу примеров успешного культивирования корнесобственных культур в Украине и России на протяжении десятилетий и уместно задуматься о цене такой истории вопроса, когда бездоказательно и безответственно искажается объективная оценка сортов, которые могли бы приносить огромную пользу людям и стране, и которыми она могла бы гордиться. Также можно приводить много примеров, когда на закрытых дегустациях именитые виноделы ставили высокие оценки виноматериалам из новых сортов».

Павел Яковлевич создал солидную научную школу, после его гибели оставалось много людей, понимавших значение этого человека и его трудов для отечественной науки и готовых сделать все, чтобы сохранить его научное наследие, несмотря ни на какие обстоятельства. Одним из таких людей оказалась моя тетя, Костик Мария Антоновна, скромная, интеллигентная, деликатная женщина, всю свою оставшуюся жизнь посвятившая делу спасения и сохранения остатков коллекции Павла Голодриги. В 1990 году Мария Антоновна защитила диссертацию,

посвященную созданию сортов винограда, устойчивых к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам – вирусам, вредителям, болезням, став кандидатом сельскохозяйственных наук. Однако в 1992 году, выступая за сохранение авторских прав профессора П.Я. Голодриги на многие сорта винограда и возражая против уничтожения коллекционного генофонда, она ушла из «Магарача». Вот как она сама описывает события тех лет в статье «Крымский парадокс: желанные в Италии, изгои в Крыму – элитные крымские сорта»: «Уже после сокращения из «Магарача» в 1992 году была моя последняя поездка в Чечню. Из Ставрополя бывший директор совхоза «Авангард» Яцков В.М. организовал машину, а бывший агроном Юра Тимукин сопровождал меня в этой поездке. Там уже всюду были шлагбаумы, стояли люди с автоматами наперевес, но нас пропускали. Вместе с Юрой мы провели отборы и выделили 60 лучших сортообразцов, а зимой бригадир Гапур Абдулхалимов из выделенных нами форм заготовил черенки и передал их на Ставрополье. Там мы по-братски поделили и половину привезли в Ялту. Таким образом, из переданных в Чечню на испытание 400 сортообразцов, мы получили лучшие». Подумать только – страна разваливается, то тут, то там на территориях бывших советских республик и Северного Кавказа вспыхивают локальные вооруженные конфликты, гибнут люди, а Мария Антоновна прячет в подвалах домов своих чеченских и дагестанских коллег коллекционные сорта винограда Павла Голодриги! Невольно напрашивается параллель с ленинградскими учеными, хранителями коллекции Н.И.Вавилова, которые, погибая от голода во время Блокады, сберегли уникальные образцы из коллекций семян, собранные учеными в экспедициях по всему миру. Видно, так предопределено в России – спасти научные коллекции в нашей стране можно только вопреки всем постановлениям властей, любым обстоятельствам, страхам, обстрелам, бомбежкам, руководствуясь исключительно любовью к Науке, желанием сберечь Истину и обретая силы для совершения своего подвига в громаде человеческого Духа.

В 1993 году Мария Антоновна организовала научно-внедренческую фирму «Ампелос» и занялась воссозданием утраченного виноградного генофонда и созданием новых сортов винограда.



Костик М.А.

На базе совхоза-завода «Ливадия» создается первый 5-гектарный маточник сорта «Цитронный Магарача», который сейчас широко распространен на Кубани, только в Темрюкском районе его площади составляют 1200 гектар. Этот сорт лег в основу марки вина Мускатель белый, завоевавшего множество международных наград и призов. Виноградарство начинает потихоньку возрождаться и в Крыму, однако до полного восстановления прежних промышленных объемов в республике еще очень далеко.

Из черновики Костик М.А.: «В то время, когда мы вынуждены импортировать свежий виноград, виномаериалы и коньячные спирты, в США, Китае, Чили, Аргентине, Австралии наблюдается настоящий виноградно-винодельческий бум. Так, например, в Северной Америке, за последние 15 лет в три раза увеличилось количество винодельческих предприятий, а в Китае площади под виноградными насаждениями увеличились в 6 раз».

Более оптимистично обстоят дела в традиционных виноградарских и винодельческих регионах – на Кубани, в Ставрополье, в Дагестане.

Из черновики Костик М.А.: «В России, на черноземах Кубани, Ставрополья, Ростовской области и других регионов, где существует филлоксера, удельный вес корнесобственных устойчивых сортов украинской, молдавской, венгерской селекции составляет от 20 до 50% виноградных насаждений. Однако некоторые специалисты виноградарской области с предубеждением относятся к

новым сортам и считают, что в корнесобственной культуре виноград можно выращивать только на песках. Между тем, в суровые зимы 2006, 2010 и 2012-го годов, когда температура понижалась до -26–28 градусов, только корнесобственные насаждения таких сортов как «Подарок Магарача», «Рисус», «Рубин Голодриги», «Цитронный Магарача», «Первенец Магарача» в хозяйствах Кубани и Крыма, Херсонской, Николаевской, Одесской областей и на песках, и на черноземах, и на красноземах обеспечили урожай в пределах 70–130 ц/га. Кроме того, устойчивые сорта обладают прекрасной регенеративной способностью, что позволяет восстанавливать поврежденные экстремально низкими температурами кусты из порослевых побегов. Мечты Павла Яковлевича сбылись, и его сорта с каждым годом становятся все более востребованными. В настоящее время сорта корнесобственных культур занимают сотни и тысячи гектаров в промышленных насаждениях России. Подтверждена их полевая устойчивость к филлоксере, грибным болезням и морозу, высокая урожайность и хорошее качество. Они являются страховым фондом многих виноградарских хозяйств. Виноделы России совершенствуют технологию производства виномаериалов и коньяков из устойчивых сортов. Очень хочется верить, что и в Крыму возродится отрасль виноградарства и виноделия, и устойчивые сорта займут в насаждениях достойное место».

Брекина Оксана Васильевна

Доцент кафедры психологии и социальной педагогики ГГТУ



Сорт «Рубин Голодриги» (с-з «Ливадия», 2003)

Научное издание

Индекс 36189

Подписано к печати 07 июля 2020 г.

Формат 60x84/8. Объем 12 п.л. Тираж 250 экз.