



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

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2020 ТОМ VOLUME 103 ВЫПУСК ISSUE 3



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 3
 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) включен
в «Перечень изданий ВАК РФ» 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., дxn, академик РАН,

ЗАО “Щелково Агрохим”

Лаврищев А.В., дсxn, СПбГАУ

Лаптев А.Б., дбн, ООО “ИЦЗР”

Левитин М.М., дбн, академик РАН, ВИЗР

Лулева 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., Власов Д.Ю., Ганнибал Ф.Б., Намятова А.А., 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**Развитие микроспориологии в России****И.В. Исси**

Development of microsporidology in Russia

I.V. Issi 161

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Лабораторная оценка пригодности разных видов кормовых клещей для разведения *Amblyseius swirskii* и *Neoseiulus cucumeris* (Mesostigmata, Phytoseiidae)****Л.П. Красавина, О.В. Трапезникова**Assessment of different species of fodder mites for mass rearing of the predatory mites *Amblyseius swirskii* and *Neoseiulus cucumeris* (Mesostigmata, Phytoseiidae) under laboratory conditions

L.P. Krasavina, O.V. Trapeznikova. 177

Вредоносность корневищных и корнеотпрысковых сорных растений в посевах озимой пшеницы и ярового ячменя в условиях лесостепи юга Нечерноземной зоны**А.Н. Никольский, Д.В. Бочкарев, Т.Ф. Девяткина, Ю.Н. Недайборщ, В.Д. Бочкарев**

The harmfulness of rhizome and creeping weeds in crops of winter wheat and spring barley in the forest-steppe south of the Non-chernozem zone

A.N. Nikolskiy, D.V. Bochkarev, T.F. Devyatkina, Y.N. Nedajborshch, V.D. Bochkarev 182

Устойчивость образцов местного овса из Центральной Азии**к обыкновенной злаковой тле****Е.Е. Радченко, М.А. Чумаков, И.Г. Лоскутов**

Greenbug resistance of oat landraces from Central Asia

E.E. Radchenko, M.A. Chumakov, I.G. Loskutov 187

Краткие сообщения / Short Communications**Устойчивость к фитофторозу клонов картофеля в расщепляющихся гибридных популяциях****Н.М. Зотеева**

Resistance to late blight of potato clones in segregating hybrid populations

N.M. Zoteyeva 192

Биологические особенности и устойчивость к фунгицидам фитопатогенного гриба***Ilyonectria crassa*****Е.М. Чудинова, В.А. Платонов, А.В. Александрова, С.Н. Еланский**Biology and resistance of phytopathogenic fungus *Ilyonectria crassa* to fungicides

E.M. Chudinova, V.A. Platonov, A.V. Alexandrova, S.N. Elansky 196

Новые сведения о распространении на территории России гриба *Fusarium langsethiae*, продуцирующего Т-2 и НТ-2 токсины**О.П. Гаврилова, Т.Ю. Гагкаева**Latest information on the distribution of *Fusarium langsethiae*, the producer of T-2 and HT-2 toxins, in Russia

O.P. Gavrilova, T.Yu. Gagkaeva 201

Identification of sunflower pathogenic fungus *Plenodomus lindquistii* using PCR with species-specific oligonucleotide primers

M.M. Gomzhina, Ph.B. Gannibal

Идентификация патогенного для подсолнечника гриба *Plenodomus lindquistii* с использованием ПЦР с видоспецифичными праймерами

М.М. Гомжина, Ф.Б. Ганнибал. 207

Fungal pathogens of tomato in South-Western Russia (Krasnodar Territory)

E.M. Chudinova, T.A. Shkunkova, S.N. Elansky

Грибные патогены томата на Юго-Западе России (Краснодарский край)

Е.М. Чудинова, Т.А. Шкункова, С.Н. Еланский. 210

Система электронного редактирования журнала «Вестник защиты растений» 213

Контрольный список подготовки материала к отправке 216

Заполнение метаданных рукописи, принятой к печати 217

Оформление заимствований в рукописях научных статей 218

Electronic Editing System of the Journal “Plant Protection News” 219

Submission Preparation Checklist 219

Handling Metadata of Accepted Papers 220

Handling of Non-Original Data 220

РАЗВИТИЕ МИКРОСПОРИДИОЛОГИИ В РОССИИ

И.В. Исси

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: irma_issi@mail.ru

Изучение микроспоридий и микроспориозов диких животных начато в России в 60-ые годы прошлого века. В европейской части страны изучались микроспоридии, паразитирующие у насекомых – вредителей сельского хозяйства (ВИЗР), у пресноводных членистоногих и рыб (ГосНИОРХ) и у таких кровососущих насекомых как слепни (Биолог. Ин-тут АН, Петрозаводск). В Западной Сибири изучали микроспоридий кровососущих комаров (Томский университет). В итоге до 2000 года у 100 видов животных описано 118 видов и 47 родов микроспоридий, из них 20 новых. На современном этапе исследований с применением молекулярно-филогенетического анализа ведется описание новых и таксономическая ревизия ранее описанных видов. Получены оригинальные данные по видообразованию микроспоридий, подтверждена коэволюция паразитов и их насекомых-хозяев на примере микроспоридий и кровососущих комаров. При изучении строения и физиологии микроспоридий впервые выявлены: миграция секреторных белков микроспоридий в ядро клетки хозяина, факторы подавления паразитом апоптоза клетки хозяина, наличие энергетических органелл – митосом не в развивающихся стадиях, а в спорах микроспоридий. Впервые показана роль аппарата Гольджи в образовании аппарата экстрезии, а также отсутствие у микроспоридий везикулярного секреторного транспорта. Впервые для России выявлены случаи заражения микроспоридиями ВИЧ-инфицированных пациентов. В настоящее время внимание обращено на разработку новой универсальной таксономической системы микроспоридий, сочетающей молекулярные характеристики с описанием особенностей строения и развития каждого паразита. Микроспоридии имеют множество ярких структурных и функциональных отличий от всех других организмов, что служит обоснованием для выделения отдельного направления биологии: «микроспоридиология».

Ключевые слова: микроспоридии, внутриклеточный паразитизм, эволюция, экология, защита растений

Поступила в редакцию: 31.03.2020

Принята к печати: 10.05.2020

Введение

Микроспоридии – это очень мелкие одноклеточные паразиты животных, интенсивное изучение которых началось сравнительно недавно. На современном этапе развития паразитологии мы уже знаем, что микроспоридии – это тип организмов, представленных многими видами и родами, паразитирующими в клетках почти всех типов многоклеточных животных, а также в таких одноклеточных эукариотах как грегарины, инфузории и амёбы. Но до пятидесятих годов прошлого века микроспоридии рассматривались, как небольшое семейство *Microsporidia*, затем отряд *Microsporidia* с ограниченным числом видов и родов. В книге «Курс общей паразитологии» описание микроспоридий занимало около двух страниц (Догель, 1947).

До исследований, начатых в нашей стране в 1961 году во Всероссийском (тогда Всесоюзном) институте защиты растений (ВИЗР), ни видовой состав микроспоридий, паразитирующих в «диких» животных, часто представленных опасными для человека видами (наземные и водные членистоногие, кровососущие насекомые, трематоды, цестоды), ни их взаимоотношения с животными-хозяевами специально не изучались. Исследования проводились, в основном, на двух видах этих внутриклеточных паразитов, заражающих полезных насекомых, на *Vairimorpha (Nosema) apis*, вызывающей гибель медоносных пчёл, и на *Nosema bombycis*, являющейся основной причиной гибели гусениц тутового шелкопряда при его разведении. Именно значительные материальные потери в пчеловодстве и шелководстве привлекали внимание специалистов к изучению этих видов микроспоридий. Основные исследования были направлены на разработку методов их быстрого выявления

в популяциях насекомых, на ограничение случаев и последствий заражения и на разработку различных способов борьбы с паразитами. Все учётные велось главным образом по наличию или отсутствию спор паразитов, внутриклеточные стадии почти не изучались.

Сейчас, уже зная о богатом биоразнообразии микроспоридий в биоценозах, о регистрациях заражения многих членистоногих не одним, а несколькими видами микроспоридий, кажется удивительным, что за всё время предыдущих исследований в России были описаны только два новых вида микроспоридий, один, паразитирующий у пресноводной гидры *Hydra sp.* в пруду Старого Петергофа Ленинградской области (Догель, 1947), и второй, *Pleistophora gadi*, найденный у трески в Баренцевом море (Полянский, 1955). В других исследованиях случаи заражения микроспоридиями обычно только упоминались.

Положение изменилось, когда на микроспоридий, многие виды которых паразитируют у вредных членистоногих, в развитых странах зарубежья стали смотреть как на перспективных агентов или как на продуцентов биологических препаратов для борьбы с вредителями сельского и лесного хозяйства или с насекомыми-переносчиками возбудителей опасных заболеваний человека или животных, имеющих серьёзное медицинское или ветеринарное значение.

Три этапа развития микроспоридиологии в СССР, а затем в России и сопредельных странах, полностью повторили этапы, характеризующие развитие этой отрасли биологии в мировой науке. Первый этап, завершившийся к концу шестидесятых годов прошлого века, был ограничен светомикроскопическим изучением паразитов, когда

для создания таксономической системы микроспориций использовались такие признаки как размеры и форма спор паразита, систематическое положение животного-хозяина, а также особенности спорогонии. В последнем признаке, главным образом, учитывалось характерное для рода число спор, образующихся из одного споронта.

С начала семидесятых годов, на втором этапе развития этой отрасли науки, основное внимание при описании микроспориций уделялось результатам электронно-микроскопического изучения, позволяющего судить об ультраструктурных особенностях всех стадий жизненного цикла микроспориций, включая споры, и об ответных реакциях зараженной клетки. Новые методические возможности вызвали значительный рост описаний новых форм паразитов, объём группы вырос в несколько раз. В качестве таксономических критериев «высокого ранга», используемых для выделения отрядов и семейств, во всех предложенных разными авторами системах класса, а затем типа микроспориций были использованы особенности строения ядерного аппарата (одиночное или диплокарион), аппарата экстрюзии (строение полярнопласта и полярной трубки) и жизненных циклов микроспориций (простые или сложные с двумя или тремя спорогониями), протекающих в одном или двух животных-хозяевах, одновременно или последовательно.

Третий этап, обусловленный использованием молекулярно-филогенетического анализа для изучения родственных связей микроспориций, завершился не только описанием множества новых форм и переописанием уже известных, но и почти полным отрицанием тех подходов к построению системы и тех таксономических критериев, которые ранее были использованы наукой в систематике,

как на первом, так и на втором этапах изучения микроспориций. В результате описания новых и ревизии ранее описанных таксонов микроспориций, а также построения их системы с учётом анализа филогений, мы имеем быстро разрастающееся филогенетическое древо с множеством ветвей-клад. К сожалению, в большинстве случаев эти результаты не сопровождаются выявлением и анализом сходных признаков у форм, образующих группу близкородственных видов и родов, или кладу. Несмотря на то, что эти сходные признаки чаще всего ещё не выявлены, можно с высокой вероятностью предположить их наличие, учитывая сходство консервативных участков генов у членов одной клады. Их выявление и анализ необходимы для понимания закономерностей эволюции этих древнейших паразитов. На настоящем этапе развития микроспорициологии абсурдной становится и ситуация, когда при построении отдельных клад возникает необходимость наряду с хорошо обоснованными родами и видами включать виды только на основании данных Генбанка, в лучшем случае с указанием вида или рода животного-хозяина, в котором эти микроспориции паразитируют.

Огромное биоразнообразие микроспориций, их несомненная роль в стабилизации функционирования биоценозов, в регуляции численности популяций многих животных, как вредных, так и полезных видов, особенности их взаимоотношений с животными-хозяевами, поразившие нас с первых лет изучения этих паразитов, сразу показали необходимость подготовки новых кадров и привлечения к исследованиям микроспориций специалистов в разных географических точках нашей страны.

Основные итоги изучения микроспориций

Подготовка микроспорициологов и оценка биоразнообразия микроспориций

После схематического описания этапов развития микроспорициологии в мировой науке, вспомним о том, как это происходило в СССР и затем в России. В 1961 году Всесоюзный институт защиты растений (ВИЗР) первым приступил к изучению микроспориций, паразитирующих у насекомых – вредителей сельскохозяйственных культур. Исполнителю повезло не только с выбором темы, связанной с изучением микроспориций вообще, но и со временем и местом выполнения исследовательских работ. В первый же год аспирантской подготовки была получена возможность начать изучение сильнейшей эпизоотии микроспорициоза у капустной белянки. В первые два года наблюдений закономерности эпизоотии изучались на капустных полях и на диких крестоцветных в Ленинградской области, а в последующие годы по всему северо-западу европейской части России и в Прибалтике. Через 2 года были опубликованы первые работы по микроспорициозу капустной белянки, вызванному микроспорицией *Vairimorpha (Nosema) mesnili* (Исси, 1963а, б), а в 1964 году защищена первая кандидатская диссертация по микроспорициозам капустной белянки, вызванному *V. mesnili*, и непарного шелкопряда, вызванному *Endoreticulatus (Plistophora) schubergi*. После защиты кандидатской диссертации были продолжены работы по выявлению новых видов микроспориций, вызывающих эпизоотии у других вредных видов насекомых. Уже первые полевые сборы насекомых разных видов

(чешуекрылых, двукрылых, жуков) выявили их зараженность микроспорициями, особенно сильную, если численность популяций насекомых была высокой. Были описаны микроспориции мошек (Исси, 1968в), водяного клеща (Issi, Lira, 1968а); жуков (Исси, 1979а, Исси и др., 1993), бабочки ложнопестрянки (Исси, 1979б); малярийного комара (Исси, Панкова, 1983; Simakova et al., 2005) и других. Не менее интересные находки микроспориций происходили при анализе на зараженность лабораторных культур разных насекомых, в частности блох.

Общебиологическая научная значимость микроспориций как древнейших внутриклеточных паразитов среди эукариот, их широкое распространение в качестве паразитов очень многих представителей животного мира, а также их огромное практическое значение убедительно говорили о необходимости широкой подготовки новых кадров, способных работать с микроспорициями и владеющих методами их изучения, для разных научных центров нашей страны. Поэтому, начиная с середины семидесятых годов, лаборатория микробиометода ВИЗР становится центром подготовки новых микроспорициологов. Заинтересованность в подготовке таких кадров проявили также другие научные и учебные центры страны. Новые специалисты готовились через аспирантуру ВИЗР или других институтов при руководстве аспиранта сотрудниками лаборатории микробиометода ВИЗР. Кроме подготовки в аспирантуре многие проходили обучение путём стажировки в лаборатории микробиометода.

В этот начальный период работы с микроспоридиями в СССР исследования в основном касались выявления на нашей территории уже описанных в Европе или новых видов, паразитирующих у насекомых в естественных биоценозах или в агроценозах, определения их систематического положения и изучения их роли в ограничении численности популяции насекомого-хозяина путём учётов зараженности и смертности в период эпизоотий в полевых условиях и в лабораторных опытах.

В самом ВИЗРе сотрудники продолжали работу по оценке зараженности микроспоридиями насекомых, встречавшихся на культурных и диких растениях во время полевых обследований. Ситуация была такова, что при сборе нескольких десятков гусениц чешуекрылых или личинок пилильщиков, обгрызающих листья растений, или взрослых жуков, питающихся пыльцой цветов, при просмотре материала под микроскопом обязательно находили споры микроспоридий. Но главное внимание в этот период было обращено на микроспоридий, паразитирующих у вредных чешуекрылых насекомых –капустной, озимой, хлопковой, картофельной совок.

Исследования по микроспоридиозам чешуекрылых выполнялись аспирантами и других институтов. В конце шестидесятых в Таджикистане Г.Н. Нилова в полевых условиях нашла микроспоридий и сделала описание паразитов и вызываемых ими эпизоотий микроспоридиоза у озимой и хлопковой совок. Аспирант нашего Аграрного университета М.Т. Ткач изучил и сделал подробное описание эпизоотии микроспоридиоза, вызванного новым видом паразита *Nosema hydraeciae*, у картофельной совки (Исси, Ткач, 1975). Работавший в Симферополе П.А. Симчук обнаружил микроспоридию у гусениц яблонной плодовой гусеницы (Симчук, Исси, 1975), и впервые в 1980 году выявил микроспоридий в популяциях лугового мотылька (Исси и др., 1980). В продолжение работ с капустной белянкой и другими чешуекрылыми в Тартуском Институте биологии (Эстония), Л.Р. Тальп и К.Р.Хийссаар изучали влияние заражения микроспоридиями на выживание в зимний период ряда вредителей, в том числе, капустной белянки, зараженной *Nosema mesnili*. В.И. Долженко, аспирант ВИЗР, нашел микроспоридий у мух рода *Delia*, вредящих сельскохозяйственным культурам (Исси и др., 1983).

Однако самая большая заинтересованность в изучении микроспоридий возникла у научных сотрудников, работающих с кровососущими двукрылыми – комарами, мошками и слепнями. В Казахстане паразитов кровососущих двукрылых изучал Н.Г. Левченко, в Якутии Э.И. Воробец. На Украине были подготовлены три аспиранта. Т.М. Ефименко изучала паразитов сельскохозяйственных вредителей (Ефименко и др., 1990). П.Я. Килочичский из Киевского университета проводил исследования микроспоридий комаров (Килочичский, Исси, 1978), Е.Н. Пушкарь из Донецкого университета работала с микроспоридиями мошек, а Л.Ф. Ходжаева в Узбекистане – с микроспоридиями и комаров, и мошек (Ходжаева, Исси, 1989; Исси и др., 1991).

В Западной Сибири в Томском университете сложился дружный творческий коллектив, всесторонне изучавший микроспоридий кровососущих комаров. Исследования были начаты Т.Ф. Панковой, а после защиты ею кандидатской диссертации продолжены её ученицей А.В. Симаковой (Исси, Панкова, 1983; Панкова и др., 2000; Симакова, Панкова, 2005, 2008; Simakova et al., 2009ab).

Эта исследовательская группа выполнила огромный объём работ, описав микроспоридий, паразитирующих у всех массовых видов кровососущих комаров, и показав своеобразие фауны Западной Сибири, где большинство насекомых-хозяев и их паразитов отнесены к эндемикам. Этой группой исследователей убедительно доказано наличие коэволюции основных групп паразитов-микроспоридий и их хозяев – кровососущих комаров на родовом уровне (Andreadis et al., 2012), филогенетическое древо микроспоридий, паразитирующих у комаров, соответствует древу их хозяев. К моменту защиты докторской диссертации в 2013 году А.В. Симаковой (с соавторами) было описано 34 вида микроспоридий, относящихся к 8 родам, из них 33 вида и 5 родов были новыми для науки.

В восьмидесятые годы в Карелии Х.И. Быкова, научный сотрудник Института биологии АН СССР (Петрозаводск), начала изучать видовой состав микроспоридий, паразитирующих у слепней. В результате сделано описание новых видов и родов паразитов, защищена кандидатская диссертация и написана книга «Определитель микроспоридий слепней». Таксоны были описаны с использованием световой и электронной микроскопии, выявлены очень интересные особенности ультраструктуры стадий жизненного цикла. Полученные данные указывали на паразитирование у слепней неблизкородственных микроспоридий (Исси и др., 1989). Очевидно, что описание этих таксонов необходимо дополнить данными их молекулярно-филогенетического анализа.

В Белоруссии Т.Д. Лиховозом было начато изучение внутриклеточных паразитов мошек. Эти насекомые в условиях Полесья часто наносят значительный вред крупному рогатому скоту (вплоть до гибели животных от укусов мошек в периоды массовых размножений насекомых). Были выявлены виды микроспоридий, вызывающих гибель насекомых-хозяев. Но в 90-е годы работы были прекращены. На Кавказе в Азербайджане по микроспоридиям комаров выполнил работу (Алиханов, 1973) и защитил кандидатскую диссертацию аспирант Института биологии АН АзССР Ш. Алиханов. В Дагестане в ходе изучения паразитов рыб, были обнаружены новые виды микроспоридий (Газимагомедов, Исси, 1970).

Микроспоридий блох исследовали сотрудники Ставропольского института М.П. Козлов и И.В. Чумакова. А.И. Вельдець описала у блох микроспоридию, отнесённую к новому роду *Pulicispora* (Вельдець и др., 1991). Дальнейшее изучение микроспоридий, вызывающих гибель блох в инсектариях, показало, что они все относились к этому новому роду.

В проводимых исследованиях не остались без внимания и паразитические гельминты, трематоды и цестоды, для которых также известны случаи заражения микроспоридиями. В результате обобщения материалов по микроспоридиям трематод Н.Г. Шигиной, сотрудницей Всесоюзного института гельминтологии им. К.И. Скрябина, были даны описания 27 видов, дополненные перечнем недостаточно изученных микроспоридий, также оценена возможность использования этих внутриклеточных паразитов в борьбе с червями-хозяевами (Шигина, 1986). Л.Т. Поддубная нашла и описала типовой вид микроспоридий нового рода *Paratuzetia* из плероцеркоида цестоды *Khawia armeniaca* (Poddubnaya et al., 2006).

С середины восьмидесятых годов много внимания стало уделяться изучению паразитов прямокрылых насекомых. В природных условиях Узбекистана были выявлены случаи заражения микроспоридиями особой марокканской саранчи и других прямокрылых (Исси, Крылова, 1987). Описанная С.В. Крыловой и А. Нуржановым микроспоридия *Nosema maroccanus* из марокканской саранчи, впоследствии по данным молекулярно-филогенетического анализа была отнесена к роду *Tubulinosema* (Issi et al., 2008). Уже в XXI веке у саранчовых и кузнечиков было обнаружено несколько видов микроспоридий рода *Liebermannia*, один из них – на Юго-Западе России (Ignatieva et al., 2019).

В лаборатории микробиометода ВИЗР была создана и использовалась в многочисленных и многолетних опытах модель на основе лабораторной культуры двупятнистого сверчка *Gryllus bimaculatus*, заражаемого микроспоридией *Paranosema (Nosema) grylli*, для изучения особенностей паразито-хозяйинных отношений микроспоридий и прямокрылых насекомых на клеточном и организменном уровнях. На основе изучения ультраструктурных и молекулярных данных было уточнено систематическое положение микроспоридии, паразитирующей в сверчке, как типового вида нового рода *Paranosema* (Sokolova et al., 2003). Также обнаружено заражение лабораторной культуры двупятнистого сверчка микроспоридиями другой филогенетической линии, и с помощью генотипирования молекулярных клонов белок-кодирующих генов доказана общность происхождения изолятов паразита из Великобритании и России (Tokarev et al., 2018a). С.В. Крылова изучала специфичность микроспоридии, выделенной из прямокрылых, путём заражения этим видом других насекомых (Исси, Крылова, 1987). В Ташкенте А. Нуржанов продолжил работу с микроспоридиями и поиски заражения в азиатской саранче и других прямокрылых (Исси и др., 1983).

В начале 70-х годов В.Н. Воронин, аспирант Всесоюзного НИИ озёрного и речного рыбного хозяйства, начал изучение микроспоридий пресноводных рыб и водных членистоногих: насекомых, личинки которых входят в кормовую базу рыб, и ракообразных. После защиты кандидатской диссертации исследования микроспоридий были продолжены (Исси, Воронин, 1984; Воронин, 1986). Значительным событием стали публикации в 1984–1985 годах первых в отечественной литературе работ по микроспоридиям, выполненных на ультраструктурном уровне (Воронин, Мельникова, 1984; Исси и др., 1985).

В общей сложности В.Н. Ворониным в ходе многолетних исследований впервые для Северо-Западного региона России установлено широкое распространение микроспоридий среди различных групп пресноводных беспозвоночных и рыб, описано около 50 новых видов. При этом видовой состав микроспоридий из пресноводных ракообразных увеличился на 27 новых видов и составил для России 54 вида. Список микроспоридий у личинок хирономид возрос на 15 новых видов, а общее их число для России составило 24 вида. Для рыб описано 4 новых вида. В партенитах и церкариях трематод найдено три вида микроспоридий, из них один новый. К видам, ранее описанным другими авторами, отнесены единичные находки микроспоридий из пиявок, водяного скорпиона, личинок стрекозы, коретры, подёнок и ручейников. В водоёмах, в основном Ленинградской области, им была отмечена высокая зараженность микроспоридиями личинок хирономусов, ведущих придонный

образ жизни. В итоге этих исследований В.Н. Воронин нашел, что крупные личинки *Chironomus plumosus*, вероятно в результате особенностей условий обитания, были заражены 12-ю видами микроспоридий, относящихся к 10 родам. Исследования были продолжены и завершены защитой докторской диссертации.

В 1986 году Общество протозоологии (Издательство «Наука») опубликовало сборник «Микроспоридии» с тремя монографическими статьями: И.В. Исси «Микроспоридии как тип паразитических простейших», В.Н. Воронина «Микроспоридии ракообразных» и Н.Г. Шигиной «Видовой состав, биология и возможности применения микроспоридий трематод». Следует отметить, что в первой работе впервые использованы ранее полученные оригинальные данные по ультраструктурной организации микроспоридий, позволившие пересмотреть систематический статус многих таксонов разного ранга и обосновать новые подходы к организации системы этих паразитов. Монографическая статья И.В. Исси переведена Обществом патологии беспозвоночных США в 1994 году на английский язык. Затем было опубликовано ещё несколько обзорных работ (Соколова, Исси, 2001; Исси, 2002; Исси, Токарев, 2002; Исси и др., 2005; Исси, Воронин, 2007).

В 2018 году было решено опубликовать список статей с описаниями новых видов микроспоридий, сделанными в СССР, затем в России и сопредельных странах в 1969–2000 годах, то есть до начала этапа молекулярно-филогенетических исследований микроспоридий. Эти данные обобщены в обзоре на основе более 100 публикаций, многие из которых были в малотиражных сборниках институтов и вузов и могли остаться незамеченными другими специалистами (Sokolova et al., 2018). В обзоре дано краткое описание 118 видов микроспоридий, относящихся к 47 родам, из них 20 новым, паразитирующим у ста разных животных-хозяев.

За истёкшие 20 лет XXI-го века описано с использованием самых современных методов, в том числе молекулярного, не менее 20 видов микроспоридий. В ВИЗРе первая работа по молекулярно-филогенетическому анализу родственных связей микроспоридии рода *Anncaliia* из рапсового цветоеда – жука *Meligethes aeneus*, собранного в Ленинградской области, выполнена совместно с немецкими учёными (Franzen et al., 2006). Молекулярно-филогенетические данные неожиданно показали её близкое родство с видом рода *Brachyola*, паразитирующим у человека, что привело к переводу этого рода в род *Anncaliia*. Последующие описания новых видов и родов паразитов с использованием молекулярных методов выполнялись уже сотрудниками ВИЗР и других российских институтов.

Использование молекулярно-филогенетического анализа сделало возможным выяснение родственных отношений видов, относящихся к разным родам, в нескольких группировках микроспоридий. Подтверждена валидность ранее описанных видов микроспоридий пресноводных ракообразных (Issi et al., 2012; Tokarev et al., 2012) и рыб (Токарев и др., 2015), прямокрылых (Issi et al., 2008), жесткокрылых (Franzen et al., 2006) и чешуекрылых насекомых (Tokarev et al., 2015), составлены полные описания новых видов (Issi et al., 2010; Malyshev et al., 2013; Simakova et al., 2018; Tokarev et al., 2018b), в том числе типовых видов новых родов (Tokarev et al., 2010ab; Lipa et al., 2020), проведена дифференциальная диагностика микроспоридий, обнаруженных в лабораторных и производственных культурах

насекомых (Tokarev et al, 2018a), в том числе двух микроспоридий медоносной пчелы в условиях Западной Сибири (Tokarev et al., 2018c). Очень интересна и своевременна работа по ревизии всего состава видов, отнесённых к двум родам – *Nosema* и *Vairimorpha*, для уточнения диагнозов этих родов с учётом всех последних молекулярно-филогенетических данных (Tokarev et al., 2020).

Впервые в России микроспоридии были обнаружены у больных людей с расстройством кишечника. С помощью специфического окрашивания мазков стула и ПЦР-диагностики врачом О.И. Соколовой (Sokolova et al., 2011, 2012) совместно с микроспоридиологами выявлено заражение микроспоридиями ВИЧ-инфицированных пациентов Клинической инфекционной больницы имени П.С. Боткина. Пробы стула у 19% обследованных пациентов содержали споры и ДНК четырёх видов микроспоридий: *Encephalitozoon intestinalis* (13%); *E. cuniculi* (2%); *E. hellem* (1%); *Enterocytozoon bieneusi* (1%); и два неописанных ранее генотипа. Эти данные, а также результаты клинических анализов свидетельствуют о важной роли микроспоридиоза в синдроме иммунодефицитов и говорят о необходимости использования конкретной диагностики и последующего лечения микроспоридиозов, которые в России ранее не проводились.

Таким образом, проведённые нами исследования показали, что микроспоридии как паразиты типичны для всех изученных групп билатеральных животных, вызывая у зараженных особей серьёзные заболевания. Их отсутствие в списках паразитов какой-либо группы животных свидетельствует скорее о том, что эта группа слабо исследована паразитологами, а не о том, что она не заражается микроспоридиями.

Следует также отметить, что описание В.А. Догелем микроспоридий у гидры, «сидячего» животного с лучевой симметрией, уникально, так как эти паразиты заражают преимущественно животных с билатеральной симметрией, подвижных и имеющих более «энергичный» обмен веществ, чем у лучевых. Микроспоридии, клетка которых лишена органелл передвижения, предпочитают заражать подвижных животных-хозяев.

Полученные нами за эти годы данные говорят о том, что мы находимся в самом начале исследования микроспоридий. Очевидно, что с каждым годом число их новых форм будет увеличиваться. Описание более 1400 видов микроспоридий (данные мировой литературы) большинством исследователей обоснованно считается малой долей от реального видового богатства, существующего в природе. Следует подчеркнуть, что некоторые интересные особенности строения и функционирования клетки микроспоридий обусловлены древностью этих паразитов, а также особенностью их эволюции внутри клетки хозяина. Все это требует дальнейшего изучения.

К концу 80-х годов в результате подготовки специалистов через аспирантуру, стажировку и путём совместных работ по изучению и описанию новых видов микроспоридий коллектив микроспоридиологов, работавших в СССР, превысил 20 человек (в России 8 + аспиранты, в республиках – 13). В общей сложности по разным проблемам микроспоридиологии за весь период изучения микроспоридий в СССР и в России научными сотрудниками защищено восемь докторских и более 20 кандидатских диссертаций. К сожалению, в 90-е годы ряд талантливых сотрудников,

выполнив исследования по микроспоридиям, после успешной защиты кандидатской диссертации ушли решать иные проблемы биологии (В.И. Долженко, Н.М. Онацкий, К.В. Селезнёв и др.).

Другие, став микроспоридиологами и продолжая исследовательские работы, овладевали самыми современными методами исследований этих мельчайших эукариот (электронная микроскопия, иммунная ЭМ, биохимия, молекулярная генетика и филогения). Они продолжают изучение микроспоридий как в ВИЗР, так и в других учреждениях – Институте цитологии РАН, Санкт-Петербургской Государственной Ветеринарной Медицинской Академии, в Томском Государственном Университете (В.Н. Воронин, Ю.С. Токарев, А.В. Симакова, В.В. Долгих, Ю.Я. Соколова, Е.В. Насонова, И.В. Сендерский и другие.). На всём протяжении исследования микроспоридий наша группа ощущала поддержку института и поддерживала научные контакты с другими научными учреждениями.

Большую помощь в изучении микроспоридий оказали гранты РФФИ, обеспечившие возможность использования высокотратных современных методов, необходимых как при изучении филогении этих паразитов, так и при изучении особенностей их обменных процессов и взаимоотношений с клеткой животного-хозяина.

Далее попробую кратко перечислить, какие наиболее интересные моменты изучения микроспоридий, уже полученные нашими исследователями, не следует оставлять без внимания, какие исследования, давшие интересные результаты, впервые проведены у нас, и на что желательно обратить внимание в дальнейшем.

Современное состояние систематики микроспоридий

В этом разделе остановлюсь только на том, как менялся статус микроспоридий в системе живого и какие таксономические критерии использовались в разное время для построения системы внутри типа микроспоридий. На всём протяжении изучения микроспоридий в нашей стране первыми вопросами в отношении вновь найденного паразита были определение его вида и его положения в системе этих организмов. Не менее существенные вопросы о родственных связях микроспоридий с другими эукариотами и об их положении в системе живого, мы рассмотрим в конце статьи.

На каждом этапе исследования микроспоридий, определяемом уровнем используемых методик, влияющих на выбор таксономических критериев, создавалась система микроспоридий. В России одной из первых работ в этом направлении было «извлечение» микроспоридий из отряда Книдоспоридий и признание отсутствия их близких родственных связей с *Mucosporidia* (Issi, Shulman, 1968). Далее систематическому положению микроспоридий в мире живого и построению системы внутри класса, а затем типа, постоянно уделялось большое внимание (Исси, 1986; Issi, 1994; Исси, Воронин, 1979, 1984, 2007; Воронин, 2001; Соколова, Исси, 2001).

Однако молекулярно-филогенетический анализ, показавший несостоятельность всех систем микроспоридий, созданных на первых двух этапах развития микроспоридиологии, привёл к необходимости проведения тщательнейшего анализа особенностей строения и развития микроспоридий для получения, помимо молекулярных данных, новых таксономических критериев для группировок

разного уровня. Одним из первых удачных примеров можно назвать обоснование надкласса Tubulinosematoidea, где сходство маркерных последовательностей ряда генов коррелирует с особенностями тонкой структуры оболочки клетки паразитов, которые чётко выделяют эту группу среди остальных групп микроспоридий (Simakova et al., 2018).

На фоне полного отрицания старых систем микроспоридий интересным исключением оказалось совпадение системы, построенной на таких «старых» таксономических особенностях как ультратонкое строение стадий и спор микроспоридий, паразитирующих у кровососущих комаров, с современной системой, построенной с учётом молекулярной филогении этих паразитов. При этом древо жизни родов этих микроспоридий совпало с древом жизни родов кровососущих комаров, что убедительно свидетельствует о коэволюции паразитов с эволюцией насекомых-хозяев (Andreadis et al., 2012).

О том, что наиболее существенно значимыми в формировании жизненных циклов микроспоридий следует считать отношения паразита с конкретным хозяином, (средой обитания 2-го порядка), свидетельствует то, что по данным молекулярной филогении жизненные циклы двух близкородственных видов, развивающихся в разных хозяевах, могут значительно различаться. Эти данные позволили оценить адаптивный характер перестроек жизненных циклов микроспоридий при попадании в нового хозяина или в новые условия. Поэтому жизненные циклы и их особенности, бывшие ранее в старых системах таксономическими критериями высокого ранга (на уровне класса или отряда), теперь рассматриваются только как родовые или даже как видовые признаки.

Проанализированы основные итоги молекулярно-филогенетических подходов к построению новой универсальной системы микроспоридий и названы главные трудности, возникшие как следствие кардинальных изменений в оценке старых таксономических критериев, так и при поисках новых критериев. Всё это свидетельствует о том, что исследования для получения данных, необходимых для построения универсальной системы микроспоридий, раскрывающей в качестве таксономических признаков общие черты и особенности видов, образующих каждую единую кладу, ещё только начаты и, вероятно, станут одной из основных задач микроспоридиологии, решаемых в настоящем и будущем времени по мере увеличения числа описываемых новых форм.

Эпизоотология микроспоридиозов

Изучение эпизоотий микроспоридиоза в природных популяциях вредных видов насекомых представляет большой интерес, так как в результате мы получаем данные, позволяющие судить о роли изучаемого паразита в динамике численности животного-хозяина, о перспективности дальнейших исследований этого вида микроспоридий в целях оценки возможностей его применения в борьбе с насекомым-хозяином или целесообразности использования выявленных закономерностей эпизоотии для прогноза численности вредителя и рекомендаций по сокращению объёмов обработок.

Длительное изучение эпизоотии микроспоридиоза в популяциях капустной белянки на Северо-Западе Европейской части России впервые дало нам конкретные представления о характере многолетних взаимоотношений членов

этой паразитарной системы. Уникальность этих исследований состоит в том, что наблюдения, проводившиеся на большой территории нашей страны в течение почти тридцати лет и регулярно фиксирующие такие показатели как численность насекомого-хозяина, заражённость его популяций микроспоридиями и другими паразитами, заражённость других насекомых этим же паразитом, метеоданные (температура воздуха, количество солнечных часов) раскрыли основные закономерности возникновения и затухания эпизоотических процессов микроспоридиоза. Резкий рост численности капустной белянки, вызванный переходом вредителя на культурные высокопродуктивные сорта растений, занимавшие в тот период огромные площади всего Северо-Запада (Карелия до Медвежьегорска, Ленинградская и Псковская области, Эстония, включая острова в Балтийском море), отмечался на каждый четвёртый или, реже, пятый год, когда количество солнечных часов было наиболее высоким. В этих условиях вредитель получал преимущество не только для массового размножения здоровых, но и для выживания ослабленных особей, так как в условиях агроценоза вредитель уходил из-под контроля многих ограничивающих его численность факторов биоценоза. В условиях высокой плотности популяции вредителя увеличивалось число пассажей паразита через контактирующих друг с другом особей хозяина и сокращалось время его развития до этапа спорообразования, когда патогенные свойства паразита начинают проявляться наиболее сильно. Увеличение числа пассажей паразита также стимулировалось всеми способами передачи паразитов от особи к особи, действенными при высокой численности хозяина: пероральной, трансвариальной, транспермальной, через паразитов и через гиперпаразитов. Изменение свойств и паразита, и хозяина на разных уровнях численности их популяций подтвердило наличие регуляторных факторов в паразитарной системе микроспоридии – насекомое-хозяин. Это особенно чётко проявилось на фоне высокой численности популяций насекомого-хозяина. Следует отметить, что районы с более высокой влажностью воздуха – остров Саарема в Балтийском море и его побережье, а также берег Онежского озера – характеризовались смешанными эпизоотиями микроспоридиоза и энтомофтороза, вызванными двумя облигатными паразитами (Исси, Червинская, 1969; Исси, 1980а).

При регистрации динамики гибели насекомых по возрастам было отмечено 2 пика по микроспоридиозу: в первых двух-трёх гусеничных возрастах при транссексуальной передаче паразитов и в последнем перед окукливанием, пятом возрасте гусениц, заразившихся в первых возрастах. Гусеницы, заражённые только апантелесом, не погибали до окукливания. Их истинная максимальная заражённость в 30%, определённая в третьем возрасте, в пятом возрасте достигала 80–95% за счет гибели гусениц от других паразитов.

В период эпизоотий была выявлена роль некоторых паразитических насекомых и нематод в передаче микроспоридий новому хозяину как этого, так и следующего поколения (Исси, Масленикова, 1966; Веремчук, Исси, 1970). Кроме капустной белянки микроспоридия заражала репную и горчичную белянку, а также их паразитов и гиперпаразитов разной природы.

В продолжение работ с капустной белянкой и другими чешуекрылыми в Тартуском биологическом институте,

Эстония, Л. Метспалу и К. Хийесаар (1984) изучали влияние заражения микроспоридиями на выживание в зимний период ряда вредителей сельскохозяйственных растений. Их исследования, в частности, показали, что зараженные микроспоридиями клетки насекомых, заполненные спорами паразита, становятся центрами кристаллизации воды при сильных морозах, что вызывает гибель в первую очередь зараженных особей.

За период наблюдений за популяциями белянки произошло 6 эпизоотий. В восьмидесятые годы дважды панзоотия микроспоридиоза с массовой гибелью зараженных особей капустной белянки охватила огромную территорию в России и Прибалтике и практически привела к периоду длительной, почти тридцатилетней, низкой численности капустной белянки в агроценозах Северо-Запада России, которая продолжается и в настоящее время (Исси, 1968а, 1986).

Сходные закономерности отмечены в колебаниях численности непарного шелкопряда и зараженности его популяций микроспоридиозом, вызванным микроспоридией *V. lymantriae*. Изучение эпизоотий в популяциях лугового мотылька дополнило этот раздел микроспоридиологии новыми данными (Фролов и др., 2008).

В отличие от наземных хозяев микроспоридий, с известной периодичностью дающих вспышки массового размножения, вслед за которыми при наличии в этих популяциях микроспоридий следует образование очагов микроспоридиоза, способных разрастись до массовой эпизоотии, в популяциях кровососущих комаров всё происходит иначе. Паразитарные системы микроспоридий, заражающих главным образом личинок кровососущих комаров семейства Culicidae, значительно древнее наземных паразитарных систем. В процессе эволюции и паразит, и хозяин в результате совместного существования приобрели множество адаптаций, в результате которых микроспоридии сохраняются в популяциях и основного, и дополнительного хозяев, а зараженность популяций комара редко превышает 10% (Симакова, Панкова, 2005, 2008). Многочисленные сообщения об очень высокой зараженности популяций комаров микроспоридиями часто были следствием проведения учётов в период окончания окукливания личинок, когда все здоровые особи уже окуклились, а зараженные, потерявшие способность к окукливанию, остались в водоёме.

Интересные результаты дало лабораторное изучение воздействия на организм насекомого совместного заражения облигатными паразитами разной природы – микроспоридиями и энтомофторовыми грибами, часто встречающегося во время массовых размножений белянки в природных условиях. Нами получено, что оба паразита прекрасно развиваются в одном насекомом вместе, но симптомы смешанного заболевания кардинально отличаются от симптомов «чистых» микроспоридиоза или энтомофтороза, трупы погибших насекомых разбухают и размокают, становясь похожими на погадки крупных птиц, и поэтому исследователями и агрономами «просто не замечаются».

Заражение нематодами-неоаплектанами гусениц капустной совки, успешно зараженных перед этим одним из двух использованных в эксперименте видов микроспоридий, завершилось тем, что при совместном развитии с микроспоридиями в одном насекомом неоаплектаны заразились каждым видом микроспоридий и передали

микроспоридии следующему заражаемому нематодами насекомому (Веремчук, Исси, 1970). Результаты этих исследований показали перспективность применения патогенов разной природы, а также возможность использования полученных данных при планировании обработок биопрепаратами или химикатами популяций насекомых, естественно зараженных микроспоридиями.

Проблемы практического использования микроспоридий

По итогам предыдущих исследований были обсуждены основные проблемы массового разведения микроспоридий в целях получения спор в больших количествах (Исси, 1980б) и результаты экспериментального внесения спор микроспоридий в агроценоз для сокращения численности совков.

Учитывая облигатный паразитизм микроспоридий и особенности их весьма интимных взаимоотношений с паразитированной ими клеткой, не вызывало сомнений, что наиболее реальный путь получения массы спор паразита – это размножение микроспоридий на лабораторной популяции насекомого-хозяина или другого насекомого, легко заражаемого этим же видом паразита (Исси, 1980б). Почти все виды микроспоридий родов *Nosema* и *Vairimorpha*, с которыми работали в лабораторных условиях, успешно заражали своих насекомых-хозяев, при этом в одной гусенице капустной белянки последнего возраста образовывалось не менее 4-х миллионов спор, а в одной гусенице капустной совки не менее 6 миллионов. В качестве насекомого-накопителя спор микроспоридий совков было предложено использовать гусениц тутового шелкопряда, что было обосновано двумя причинами: гусеницы шелкопряда обладали значительно большей массой, что позволяло получить больше спор, и методика их разведения в совершенстве была отработана шелководами. При образовании паразитами огромных количеств спор только немногие из них участвуют в дальнейшей реализации существования популяции паразита, так как успешное заражение и развитие микроспоридиоза обеспечивало попадание в организм гусениц младших возрастов всего 20–50 спор.

В лабораторных экспериментах отмечено сильное повышение восприимчивости к бактериальным препаратам зараженных микроспоридиями гусениц капустной белянки и гусениц совков (Исси, 1965а). Интересные результаты получены в полевых опытах при обработке бактериальными биопрепаратами поколения совков, следующего за поколением, экспериментально зараженным микроспоридиями. На Украине Т.М. Ефименко в полевых опытах с применением бактериального препарата выявила более высокую восприимчивость и более быструю гибель зараженных микроспоридиями гусениц совков в сравнении с незараженными особями.

Вопросы применения микроспоридий против вредителей сельского хозяйства обобщены в серии работ, продемонстрировано положительное значение внесения микроспоридий в агроценозы для борьбы с вредителями (Исси, 1980б; Токарев и др., 2007; Павлюшин и др., 2013). Не остались без внимания и вопросы безопасности для человека применения микроспоридий и гостальной специфичности некоторых паразитов (Токарев и др., 2016).

Многолетние данные, полученные при изучении эпизоотий микроспоридиоза в популяциях капустной белянки,

позволили получить конкретные показатели зараженности, прогнозирующие предстоящую скорую гибель основной массы насекомых. Эти данные были включены в методические указания с рекомендацией отмены истребительных мероприятий. Использование агрономами предложенных ВИЗР-ом рекомендаций позволило хозяйствам на каждой отмене обработок сэкономить несколько миллионов рублей. Можно сказать, что это направление по практическому использованию прогностического направления убедительно показало его целесообразность.

Взаимоотношения микроспоридий с организмом и клеткой хозяина

Вполне закономерно, что на всём протяжении изучения роли микроспоридий основное внимание уделялось взаимоотношениям паразита и животного-хозяина, приводящим к возникновению заболевания и гибели зараженного животного. Многие патологические отклонения в клетке и организме животного-хозяина были изучены уже на первом этапе исследовательских работ. Значительно расширились наши представления о патологии микроспориоза со времени применения электронной микроскопии, выявлявшей ультратонкие нарушения у хозяина на клеточном уровне. Интересные результаты получены при изучении обменных процессов и физиологии зараженных насекомых в экспериментах на нашей лабораторной модели «микроспориоза – прямокрылого насекомого».

У кровососущих комаров микроспориоз вызывал изменения в соотношении полов за счёт преимущественной гибели самцов (Алиханов, 1973), у гусениц озимой совки, зараженных микроспоридиями, отмечено усиление дыхательной активности митохондрий вследствие использования их не только клеткой хозяина, но и микроспоридиями. У многих чешуекрылых насекомых происходят нарушения роста и процессов метаморфоза и диапаузы (Исси, 1965б). При изучении особенностей ответных реакций хозяина на заражение разными дозами спор микроспоридий также были получены интересные результаты. Так, при заражении гусениц непарного шелкопряда малым числом спор микроспоридии наблюдалась сильная компенсаторная реакция организма насекомого, в результате которой вес гусениц и плодовитость бабочек были выше, чем в контрольных вариантах (Исси, 1968б). Вероятно, это было проявлением стратегии облигатного паразитизма, отработанной в длительной совместной эволюции микроспоридий и их хозяев. Но при получении насекомым более высоких доз спор, оно теряло способность к метаморфозу.

Большой объём данных по влиянию паразитов на ферментативную активность зараженных насекомых получен на лабораторной модели со сверчком и микроспоридией *Paranosema (Nosema) grylli*. При анализе жирового тела сверчков установлено влияние микроспоридии и кокцидии на активность и состав изоферментов лактатдегидрогеназы (Долгих и др., 1995) и на активность четырёх ферментов энергетического и углеводного обменов (Долгих, 1998). Также выявлено влияние этих паразитов на развитие яичников и активность трёх дегидрогеназ в жировом теле самок (Долгих и др., 1996). С использованием методов электронной микроскопии и иммунологического метода получены очень интересные данные по особенностям энергетического обмена внутриклеточных стадий микроспоридий, выявлена способность паразитов использовать

энергетические системы клетки хозяина и поглощать её АТФ при помощи специфических переносчиков. Интересен и тот факт, что используя при внутриклеточном развитии энергетические возможности клетки хозяина, в конце жизненного цикла микроспоридии формируют споры, не имеющие запасных питательных веществ, но зато с собственным энергетическим аппаратом – митосомами, что принципиально отличает споры микроспоридий от спор всех других организмов (Dolgikh et al., 1997; Долгих и др., 2002, 2011) и ещё раз подтверждает наше мнение о том, что главное предназначение споры микроспоридий – не переживание в условиях внешней среды, а максимально быстрое заражение нового хозяина (Исси и др., 2011).

Учитывая строгую внутриклеточную локализацию всех пролиферативных стадий развития микроспоридий, при которой клетка животного-хозяина служит не только источником питательных веществ, но и единственной средой обитания паразита (микробиотопом), большое внимание было обращено на влияние паразита на клетку и влияние клетки на паразита.

Оценка влияния микроспоридий на естественный процесс развития зараженной ими клетки показала, что микроспоридии способны «отодвигать» время естественной гибели (апоптоз) зараженной ими клетки. Один из американских микроспориологов написал, что микроспоридии делают зараженную клетку хозяина бессмертной. Подавление апоптоза клеток хозяина при микроспориозе было описано и нами в случае заражения непарного шелкопряда *Lymantria dispar* микроспоридией *Endoreticulatus (Pleistophora) schubergi*, развивающейся в клетках кишечника гусениц. В процессе метаморфоза куколки, полученные из больных гусениц, на брюшке сохраняли участки гусеничной мохнатой «шкурки», а у бабочек значительная часть брюшка оставалась заключенной в толстые и крепкие хитиновые покровы куколок (Исси, 1968б). Однако особенности этого процесса раскрыты не были.

Очень интересные результаты при изучении процесса подавления апоптоза зараженных микроспоридиями клеток получены Ю.Я. Соколовой (Sokolova et al., 2018). На специально разработанных экспериментальных моделях, «микроспоридии человека *Encephalitozoon cuniculi* и *Vittaforma corneae* – культуры макрофагов человека» с помощью цитохимических методов – измерения активности каспазы 3 и анализа экспрессии генов, регулирующих клеточный цикл и апоптоз, впервые продемонстрировано существенное снижение способности зараженных макрофагов к апоптозу по сравнению с незараженными, ап-регуляция анти-апоптозных генов (BCL2, TP53 и др.) и даун-регуляция про-апоптозных генов (FADD, CASP3, CD40LG, LTA и генов семейства TNF). Эти результаты позволили подтвердить гипотезу об ингибировании апоптозного каскада клетки животного-хозяина при микроспориозе, а также высказать предположение о подавлении апоптоза как об одном из универсальных механизмов патогенеза микроспоридий. Эти исследования можно рассматривать как начало изучения ещё одного патогенного свойства микроспоридий, так как характер воздействия на зараженную клетку у этих двух микроспоридий несколько различался, а апоптоз клеток у непарного шелкопряда происходил в тканях, соседствующих с зараженными, но не зараженных микроспоридиями.

Очень интересный цикл исследований по организации аппарата экстррузии спор микроспоридий и по морфофункциональным особенностям секреторного компартмента этих паразитов проведён группой сотрудников нескольких институтов, включая и наши ВИЗР и ЦИН. На начальных этапах электронного микроскопирования стадий и спор микроспоридий аппарат Гольджи у них не был найден, так как характерная для него стопка цистерн в клетках паразитов отсутствовала. Дальнейшее исследование секреторного компартмента микроспоридий показало, что на всех стадиях развития этот компартмент организован в виде непрерывных тубулярных сетей, формирующихся *denovo* на последовательных стадиях жизненного цикла: MIN-компаратмент спороплазм, везикулярный кластер меронтов, тубулярный кластер споронтов, тубулярная сеть споробластов и даже полярная трубка зрелых спор представляют собой системы связанных между собой мембранных трубковидных структур. Транспорт секретируемых белков на всех стадиях развития микроспоридий происходит путём созревания цистерн и слияния гомотипичных компартментов без участия везикулярного транспорта (Sokolova et al., 2001; Beznoussenko et al., 2007).

Трансформацию транс-компаратмента Гольджи в комплекс органелл аппарата экстррузии можно считать основным ароморфозом, характеризующим возникновение типа *Microsporidia*, и обеспечившим успешное распространение микроспоридий в качестве внутриклеточных паразитов животных и других организмов, способных к фагоцитозу. Специализация этого комплекса органелл к особенностям паразитирования в конкретных хозяевах в значительной степени определила морфологическую диверсификацию паразитов внутри типа.

К другой уникальной особенности организации секреторного транспорта микроспоридий следует отнести отсутствие на всех стадиях их жизненного цикла везикул, размером 50–60 нм, которые в соответствии с основными теориями секреторного транспорта обеспечивают anterogradный и retrogradный транспорты карго и резидентных белков аппарата Гольджи. Микроспоридии, таким образом, представляют собой уникальную модель минимальной секреторной системы эукариотической клетки, функционирующей без эндосомальной части секреторного пути, без везикулярного транспорта, без механизма O-гликозилирования, которая перспективна для изучения общих вопросов физиологии и функциональной геномики внутриклеточного транспорта эукариот (Долгих и др., 2010а; Dolgikh et al., 2005).

С помощью ультраструктурного анализа и цитохимических методов также продемонстрирована структурная гомология органелл, представляющих собой модификации аппарата Гольджи: инвазионной трубки *Paramicrosporidium*, манубриума мечниковеллид и совершенного аппарата экстррузии зародыша у высших микроспоридий.

На основании результатов многочисленных наблюдений в лабораторных опытах и в природе рассмотрены и оценены функциональные особенности спор микроспоридий и показано, что помимо функции сохранения паразита вне клетки хозяина (что свойственно спорам многих организмов) главной функцией споры микроспоридий остаётся скорейшее заражение нового хозяина (Исси и др., 2011). Многие вопросы по патогенности микроспоридий рассмотрены в обзорных статьях (Исси, Воронин 1984, 2007;

Исси и др., 2005; Исси, Токарев, 2002; Beznoussenko et al., 2011; Кольчевская, Исси, 1991; Соколова, Исси, 2001).

Свидетельства древности происхождения микроспоридий

В очень интересной статье Ю.Я. Соколовой (2009), представляющей собой обзор работ по происхождению микроспоридий и по их родственным связям с другими организмами, подробно рассмотрены современные воззрения на их происхождение и систематическое положение, в которых доминируют представления о микроспоридиях как об организмах, либо произошедших от грибов, либо как о сестринской по отношению к грибам и родственной им группе. Публикации работ о родстве микроспоридий с грибами и, что удивляло более, о происхождении их от грибов, многоклеточной, многочисленной и уже достаточно «зрелой» в эволюционном плане группе организмов, по моему мнению, на миллионы лет «омолаживали» группу микроспоридий, и существенно меняли привычные представления о микроспоридиях как об одной из наиболее древних групп одноклеточных эукариотов. Если возможное родство предков микроспоридий с предками грибов в далёком прошлом достаточно убедительно обосновывалось молекулярно-филогенетическим анализом, то столь позднее в эволюционном плане обособление от грибов таких одноклеточных организмов как микроспоридии, обладающие уникальной ультраструктурой своей клетки и не менее уникальными способами заражения и взаимоотношений с клеткой животного-хозяина, было необъяснимо и не сочеталось с особенностями биологии и эволюции самих микроспоридий, свидетельствующими в пользу их древности.

К свидетельствам древности микроспоридий, по моим представлениям, следует отнести а) прохождение всего жизненного цикла только в клетках зараженных животных, которые стали для микроспоридий средой первого порядка, их микробиотопами; б) освоение в качестве хозяев практически всех животных и одноклеточных организмов, клетки которых способны к фагоцитозу и в) развитие микроспоридий в калиевой, а не в натриевой среде.

Принимая убедительным положение о родственных связях между предками микроспоридий и грибов, всё же не следует забывать, что эти родственные связи были миллионы лет назад, когда клетки – предки этих организмов – распались на две группы, одна из которых (предки грибов) в процессе эволюции образовала многоклеточные формы, живущие в естественных биоценозах, подверженных различным экстремальным воздействиям, а эволюция другой группы (предки микроспоридий), сохраняющей свою одноклеточную организацию, миллионы лет проходила внутри живых клеток как одноклеточных, так и многоклеточных организмов, то есть в среде достаточно стандартной и однотипной в длинном ряду последовательных поколений различных животных-хозяев. Клетка, заселённая микроспоридиями, представляла для паразитов не только источник питания, но и микробиотоп (см. выше), в которой они проходили полный цикл своего развития от вброшенного в клетку зародыша до образования зрелых спор, готовых для заражения новых клеток или новых хозяев.

Пытаясь понять, как микроспоридии стали внутриклеточными паразитами, мы приняли к рассмотрению многие особенности современного развития микроспоридий,

в первую очередь такие, как их тесную связь и сложные отношения именно с паразитированной клеткой, но не с организмом хозяина; и такие, как высокое совершенство и принципиальное сходство аппаратов экстрюзии микроспоридий при паразитировании в животных-хозяевах почти всех систематических групп Animalia.

В период перехода предков микроспоридий от свободного к паразитическому образу жизни мир одноклеточных организмов уже чётко делился на предков растительного мира и предков Animalia, защитные реакции клеток которых были резко различными. У предков растений происходило утолщение и уплотнение оболочки клетки, у предков животного мира клетка обрела способность к фагоцитозу в ответ на контакт с другой клеткой. Фагоцитоз этих клеток был и защитной реакцией будущего хозяина микроспоридий и его способом добычи для пропитания.

Рассматривая вопрос о становлении предков микроспоридий внутриклеточными паразитами, попробуем разобраться в условиях и причинах этого процесса. Первым условием для возможности или необходимости превращения микроспоридий во внутриклеточных паразитов был мелкий размер их клеток. Объём клетки будущего паразита должен был быть не менее, чем на порядок, меньше объёма клетки, пригодной для заселения. Тем более, следует учитывать активную роль самих заражаемых клеток в процессе становления микроспоридий паразитами, объём клеток микроспоридий должен был стать оптимальным для захвата их при фагоцитозе клетками хозяина.

Свободное и благополучное обитание в биосфере таких мелких клеток не могло быть длительным, так как уже существовали клетки будущих Animalia, успешной защитной реакцией и способом питания которых был фагоцитоз с функцией захвата «на завтрак» более мелких, чем они, сами, клеток. Фактически очень мелкие клетки при своей свободной циркуляции в биосфере были обречены на гибель, но на каком-то этапе эволюции живого они в биосфере появились и какое-то время существовали. Встаёт вопрос, почему и когда было наиболее реальным их появление.

Высокий уровень изменчивости живых организмов – появление множества новых разнообразных форм живого, пригодных или непригодных для дальнейшей эволюции – характерен для любых катастрофических ситуаций. При развитии живого на клеточном уровне на Земле такая катастрофа, связанная с необходимостью серьёзной перестройки клеток, была вызвана изменением солевой среды, в которой обитали клетки, с калиевой на натриевую (Хлебович, 2015). Сейчас нет возможности судить о том, какие формы живого погибли, но остались и продолжают своё развитие только те, которые смогли перестроить свою клетку и её обменные процессы в соответствии с новыми условиями и даже использовать попадающий в клетку натрий в «натриевом насосе». Ещё одним путём для спасения клеток мог быть переход к паразитизму в другой клетке, уже приспособившейся к обитанию в натриевой среде. Возможно, этим путём, чтобы выжить в новых условиях, и пошли микроспоридии.

Перейдём к рассмотрению тех интересных фактов, по которым можно представить примерное время и условия происхождения микроспоридий.

а) Развитие микроспоридий от момента инъекции зародыша в клетку хозяина и до образования зрелой споры

происходит только внутриклеточно. Вне клетки, в гемолимфе или любой другой полостной жидкости все стадии, кроме спор, погибают в течение одного-двух часов. Конечно, на современном этапе их эволюционного развития причиной гибели может служить полная зависимость микроспоридий от энергетических возможностей клетки хозяина, и разрыв этой связи – вполне может быть причиной их гибели. Но если вдуматься в причины такой тесной связи паразита именно с клеткой, а не с организмом заражаемого животного, то это можно объяснить только тем, что **становление микроспоридий как паразитов произошло и, самое главное, завершилось, когда весь живой мир был ещё на клеточном уровне** (Исси, 1986). Это и было временем становления микроспоридий паразитами. Когда появились многоклеточные животные-хозяева совершенство процесса проникновения в клетку, достигнутое микроспоридиями к тому времени, освобождало этих паразитов от необходимости выработки адаптаций для попадания в организм хозяина. Поэтому многоклеточный организм, заражаемый этими паразитами, становился для микроспоридий средой не первого, а уже второго порядка. Окружающий мир, в котором существует паразитарная система микроспоридия-животное-хозяин – это уже среда третьего порядка, тоже воздействующая на паразита, но уже через ответные реакции на её изменения зараженного микроспоридиями организма.

б) Второе, на что следует обратить внимание, это выбор микроспоридиями в качестве своих хозяев животных и тех одноклеточных организмов, клетки которых способны к фагоцитозу. При контакте спор микроспоридий с клетками будущих животных, они захватывались этими клетками в процессе фагоцитоза. В результате они либо переваривались, либо должны были максимально быстро покинуть фагосому, при этом они попадали в цитоплазму захватившей их клетки. Таким образом, скорее всего **именно фагоцитоз заражаемой клетки инициировал формирование сложноустроенных спор микроспоридий со свойственным только этим паразитам (и близким к ним формам) аппаратом экстрюзии зародыша через полярную трубку**, способную наподобие иглы шприца проткнуть цитоплазматическую мембрану клетки или фагосомы. Вброс зародыша спорой микроспоридий, находящейся в фагосоме, через полярную трубку в цитоплазму клетки можно охарактеризовать и как заражение клетки паразитом, и как защитную реакцию паразита, предохраняющую его от переваривания в фагосоме. Таким образом, становление микроспоридий (или, вернее, их предков) паразитами происходило при деятельном участии в этом процессе фагоцитирующих клеток животных, так как сам процесс заражения клетки начинался с активного захвата клеткой хозяина спор микроспоридий.

в) Следует отметить и тот интересный факт, что на протяжении всей своей длительной эволюции и в настоящее время **всё своё развитие микроспоридии проходят в калиевой среде цитоплазмы заражаемой клетки** без выхода в натриевую жидкостную среду организма. Остаётся открытым вопрос, были они хотя бы короткое время в натриевой среде биосферы или пережили эту катастрофу, уже находясь в полости другой клетки, адаптированной к новым условиям? Возможно, будущие исследования помогут нам узнать, есть ли или был ли натриевый насос в клетке микроспоридий, что и позволит получить интересующий

нас ответ. Также интересно будет узнать, какие особенности клетки микроспоридий связаны с их развитием в калиевой среде и в чём их значение для паразита.

г) Не менее интересен и тот факт, что эволюция микроспоридий на всём своём протяжении длительностью миллионы лет проходила при их существовании внутри клеток различных животных-хозяев, то есть в среде достаточно консервативной, не склонной в отличие от биосферы к каким-то резким колебаниям условий существования паразитов, но весьма постепенно изменяющейся при эволюционных преобразованиях животных-хозяев микроспоридий. Вследствие этих особенностей среды обитания микроспоридий их видообразование закономерно следовало за видообразованием животных-хозяев. Так, молекулярно-филогенетические исследования показали, что древо родов комаров и древо родов микроспоридий, паразитирующих в этих комарах, очень сходны по топологии между собой (Симакова и др., 2012), что подтверждает коэволюцию микроспоридий и их хозяев.

д) Способность некоторых видов микроспоридий паразитировать в животных, далеко отстоящих от типового хозяина систематически, (например, переход от насекомых к позвоночным), можно объяснить единым способом проникновения в клетку любого животного. Происходит вброс зародыша в результате его экстрезии, а сходство среды многих клеток разных систематических групп животных не препятствует его развитию. Основным фактором адаптации микроспоридии к новым хозяевам и новым условиям становятся изменения их жизненных циклов, поэтому у близкородственных видов микроспоридий могут встречаться резко различающиеся жизненные циклы.

В заключение нужно сказать, что несмотря на то, что микроспоридии и грибы произошли от близкородственных предковых форм, в настоящее время в результате существенно различающихся у обеих групп путей эволюции образовались настолько различные организмы, что их уже

нельзя называть родственными. Кроме того, многие данные говорят об очень раннем в эволюционном плане становлении микроспоридий паразитами и о прохождении ими всего эволюционного пути во внутриклеточном пространстве животных-хозяев, что позволяет их рассматривать как самых древних паразитов среди одноклеточных эукариотов.

Исследователи знают о большом практическом значении этой группы паразитов, заражающих многих вредных для человека членистоногих и гельминтов, а также полезных животных и самого человека. Их значение подтверждено как регистрацией многочисленных эпизоотий микроспоридиоза, главным образом во время вспышек массовых размножений многих вредных видов насекомых, так и включением микроспоридий Всемирной организацией здравоохранения в список возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний. Но мне именно в этой статье хотелось обратить особое внимание на многие уникальные черты строения, физиологии, взаимоотношений с клеткой у микроспоридий, как у наиболее древней группы организмов, даже в наше время всё ещё обитающей в калиевой среде.

Микроспоридии имеют множество ярких отличий от всех других организмов, начиная от крайней минимизации генома, который у них, представляющих собой эукариотическую клетку, часто меньше бактериального. Уникальные особенности строения стадий и спор микроспоридий представлены авезикулярными путями внутриклеточного транспорта секретируемых паразитом белков; уникальной модификацией аппарата Гольджи – аппаратом экстрезии зародыша в заражаемую клетку не имеющем аналогов у других эукариотов, наличием у спор собственного энергетического аппарата – митосом и так далее. Поэтому считаю закономерным использовать для раздела биологической науки, изучающего этих древних паразитов, название «микроспоридиология».

Работа выполнена в рамках Государственного задания ВИЗР, проект № АААА-А20-120090390078-3

Библиографический список (References)

- Алиханов ШГ (1973) Изменения в соотношении полов у комаров *Aedes caspius caspius* (Pall.) при заражении естественных популяций микроспоридиями *Thelohania opacita* Kudo, 1922. *Паразитология* 7(2):370–373
- Ведмедь АИ, Крылова СВ, Исси ИВ (1991) Новый род *Pulicisporag*. n. микроспоридий из блох. *Паразитология* 25(1):13–20
- Веремчук ГВ, Исси ИВ (1970) О развитии микроспоридий насекомых в энтомопатогенных нематодах. *Паразитология* 4(1):3–7
- Воронин ВН (1986) Микроспоридии ракообразных. *Протозоология* 10:135–166
- Воронин ВН (2001) О макросистеме типа Microsporidia. *Паразитология* 35(1):35–44
- Воронин ВН, Мельникова ОЮ (1984) *Vavraia cyclocypris* sp.n. – первая находка микроспоридий (Microsporidia) из остракод. *Паразитология* 18(6):482–484
- Газимагомедов АА, Исси ИВ (1970) Микроспоридии – паразиты рыб Каспийского моря. *Зоологический журнал* 49(8):1117–1125
- Догель ВА (1947) Курс общей паразитологии. Л.: Учпедгиз. 372 с.
- Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Павлова ОА, Безноушенко ГВ (2010а) Анализ экспрессии генов везикулярного транспорта в авезикулярных клетках микроспоридии *Paranoseta (Antonospora) locustae*. *Цитология* 52:5–11
- Долгих ВВ, Григорьев МВ, Соколова ЮЯ, Исси ИВ (1995) Влияние заражения микроспоридией *Nosema grylli* и кокцидией *Adelina* sp. на активность и состав изоферментов лактатдегидрогеназы в жировом теле сверчков *Gryllus bimaculatus*. *Паразитология* 29(6):520–524
- Долгих ВВ, Григорьев МВ, Соколова ЮЯ, Исси ИВ (1996) Сравнительное изучение влияния микроспоридии *Nosema grylli* и кокцидии *Adelina* sp. на развитие яичников и активность трех дегидрогеназ в жировом теле самок сверчков *Gryllus bimaculatus*. *Паразитология* 30(1):70–75
- Долгих В.В., Семенов П.Б., Григорьев М.В. Особенности энергетического обмена микроспоридии *Nosema grylli* при внутриклеточном развитии. *Паразитология*. 2002. 36:493–501.
- Долгих ВВ, Павлова ОА, Сендерский ИВ, Пэн Г (2010б) Секреторные белки микроспоридии *Paranoseta locustae* и их участие в патогенном воздействии на организм

- перелетной саранчи *Locusta migratoria*. *Вестник защиты растений* 1:48–51
- Долгих ВВ (1998) Влияние микроспоридии *Nosema grylli* и кокцидии *Adelina grylli* на активность четырех ферментов энергетического и углеводного обмена в жировом теле сверчков *Gryllus bimaculatus*. *Паразитология* 32:464–469
- Долгих ВВ, Сендерский ИВ, Павлова ОА, Наумов АМ (2011) Уникальные особенности энергетического обмена микроспоридий, как результат длительной адаптации к внутриклеточному развитию. *Паразитология* 45:147–157
- Ефименко ТМ, Исси ИВ, Соколова ЮЯ (1990) О передаче микроспоридии *Vairimorpha antheraeae* половым путем у совок (Noctuidae). *Паразитология* 24(1):47–53
- Исси ИВ (1963а) Микроспоридиоз капустной белянки. *Защита растений* 12:42–43
- Исси ИВ (1963б) Протозооноз капустной белянки в Ленинградской области и его значение для прогноза. *Труды ВИЗР* 19:174–179
- Исси ИВ (1965а) Влияние микроспоридиоза на восприимчивость капустной белянки к инсектицидам. *Труды ВИЗР* 24:170–174
- Исси ИВ (1965б) Нарушение нормального роста и развития гусениц при экспериментальном заражении их микроспоридиями. *Успехи протозоологии* 11(91):206
- Исси ИВ (1968а) Микроспоридии, регулирующие численность вредных видов. *Труды ВИЗР* 31:300–330
- Исси ИВ (1968б) Влияние микроспоридиоза на плодовитость непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Orgyidae) в ряду поколений. *Труды ВИЗР* 31:331–339
- Исси ИВ (1968в) *Stempellia rubtsovi* sp.n. (Microsporidia, Nosematidae) – паразит личинок кавказской мошки *Odagmia ornata*. *Acta Protozool* 6(30):347–354
- Исси ИВ (1979а) Микроспоридиоз большого соснового долгоносика *Hylobius abietis* L. (Coleoptera, Curculionidae). *Зоологический журнал* 58(10):1596–1599
- Исси ИВ (1979б) Микроспоридиоз в популяциях ложнопестрянки *Amata phegea* R. (Lepidoptera, Amatidae). *Бюллетень ВИЗР* 44:7–12
- Исси И.В. (1980а) Эпизоотология микроспоридиоза капустной белянки *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera, Pieridae). В кн.: Новожилов КВ и др (ред) Перспективы использования микроорганизмов в защите растений. Л.: ВИЗР. 5–16
- Исси ИВ (1980б) Состояние вопроса и проблемы массового разведения микроспоридий. В кн.: Новожилов КВ и др (ред) Перспективы использования микроорганизмов в защите растений. Л.: ВИЗР. 82–88
- Исси ИВ (1986) Микроспоридии как тип паразитических простейших *Протозология*. 10:6–135
- Исси ИВ, Быкова ХИ, Крылова СВ, Соколова ЮЯ (1989) Микроспоридия *Ameson hybomitrae* sp.n. (Microsporidia, Perezidae) из слепней Карелии. *Паразитология* 23(1):66–74
- Исси ИВ (2002) Паразитарные системы микроспоридий. Описание и вопросы терминологии. *Паразитология* 36(6):478–492
- Исси ИВ, Воронин ВН (1979) Современное состояние вопроса о двуспоровых родах микроспоридий. *Паразитология* 13(2):150–158
- Исси ИВ, Воронин ВН (1984) Тип микроспоридии. В кн.: Быховский БЕ (ред) Определитель паразитов пресноводных рыб. Л.: Наука. 73–87
- Исси ИВ, Воронин ВН (2007) Тип Microsporidia Микроспоридии. В кн.: Алимов АФ (ред) Руководство по зоологии. Протисты. Часть 2. РАН. 994–1045
- Исси ИВ, Воронин ВН, Шибалова ТА, Лихолитов АИ (1985) Ультратонкое строение микроспоридии *Neoperezia chironomina* стадиях спорогонии. *Цитология* 27(2):142–147
- Исси ИВ, Долгих ВВ, Соколова ЮЯ, Токарев ЮС (2005) Факторы патогенности микроспоридий – внутриклеточных паразитов насекомых. *Вестник защиты растений* 3:16–25
- Исси ИВ, Долгих ВВ, Токарев ЮС (2011) Можно ли называть спору микроспоридий покоящейся стадией? *Паразитология* 45(4):324–337
- Исси ИВ, Кадырова МК, Пушкарь ЕН, Ходжаева ЛФ и др (1991) Микроспоридии мошек (определение и краткое описание видов мировой фауны. «ФАН»: Узбекистан. 123 стр.
- Исси ИВ, Крылова СВ (1987) Микроспоридии саранчовых. Саранчовые, экология и меры борьбы. Л.: ВИЗР. 58–62
- Исси ИВ, Крылова СВ, Николаева ВМ (1993) Ультратонкое строение микроспоридии *Nosema meligethi* Исси и Радищева 1979, и обоснование нового рода *Anncaliia* g.n. *Паразитология* 27(2):127–133
- Исси ИВ, Масленникова ВА (1966) Роль *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera, Braconidae) в трансмиссии *Nosema polyvora* Blunck (Protozoa, Microsporidia) *Энтомологическое обозрение* 45(3):494–499
- Исси ИВ, Панкова ТФ (1983) Новый вид микроспоридии *Issia globulifera* из малярийного комара *Anopheles maculipennis*. *Паразитология* 17(3):189–194
- Исси ИВ, Радищева ДФ, Долженко ВИ (1983) Микроспоридии мух рода *Delia*, вредящих сельскохозяйственным культурам. *Бюллетень ВИЗР* 55:3–9
- Исси ИВ, Симчук ПМ, Радищева ДФ (1980) Микроспоридиоз лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyralidae) *Бюллетень ВИЗР* 48:3–6
- Исси ИВ, Ткач МТ (1975) О массовом заражении микроспоридиями *Nosema hydraeciae* ленинградской популяции картофельной совки *Hydraecia micacea* Esp. (Noctuidae). *Труды ВИЗР* 42:70–78
- Исси ИВ, Токарев ЮС (2002) Влияние микроспоридий на гормональное состояние насекомых-хозяев. *Паразитология* 36(5):405–421
- Исси ИВ, Червинская ВП (1969) О влиянии температурных условий на развитие микроспоридий *Nosema mesnili* и *Pleistophora schubergi* (Microsporidia, Nosematidae). *Зоологический журнал* 48(8):1140–1146
- Исси ИВ, Шульман СС (1967) О систематическом положении микроспоридий. *Паразитология* 1(2):151–157
- Килочицкий ПЯ, Исси ИВ (1978) Совместное паразитирование микроспоридий (Microsporidia, Nosematidae) и мермитид (Nematoda, Mermitidae) у личинок кровососущих комаров (Diptera, Culicidae). *Паразитология* 12(5):422–425
- Кольчевская ЕН, Исси ИВ (1991) Влияние смены хозяев на патогенность и спорообразование микроспоридий. *Паразитология* 25(6):512–519

- Метспалу ЛР, Хийесаар КР (1984) Влияние микроспориоза на физиологическое состояние покоя насекомых. *Протозология* 9:114–127
- Павлюшин ВА, Исси ИВ, Токарев ЮС (2013) Энтмопатогенные микроспоридии (Eukarya: Opisthokonta: Microsporidia): возможности применения против вредных насекомых. *Вестник защиты растений* 2:3–12
- Панкова ТФ, Исси ИВ, Симакова АВ (2000) Новые виды микроспоридий рода *Amblyospora* из кровососущих комаров семейства Culicidae. *Паразитология* 34(5):420–427
- Полянский ЮИ (1955) Материалы по паразитологии рыб северных морей СССР. *Труды ЗИН* 19:5–170
- Симакова АВ, Панкова ТФ (2005) Шесть новых видов микроспоридий рода *Amblyospora* (Microspora: Amblyosporidae) из кровососущих комаров (Diptera: Culicidae) Западной Сибири. *Паразитология* 19(5):371–385
- Симакова АВ, Панкова ТФ (2008) Экология и эпизоотология микроспоридий малярийных комаров (Diptera: Culicidae) юга Западной Сибири. *Паразитология* 42(2):139–149
- Симчук ПА, Исси ИВ (1975) *Pleistophora carpocapsae* sp.n. – паразит яблонной плодовой гнили. *Паразитология* 9(2):293–298
- Соколова ЮЯ, Исси ИВ (2001) Энтмопатогенные простейшие и особенности патогенеза протозойных заболеваний насекомых. В кн.: Глухов ВВ (ред) Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М.: Круглый год. 76–188
- Токарев ЮС, Воронин ВН, Сендерский ИВ, Исси ИВ (2015) Микроспоридия *Glugea gasterostei* Voronin 1975 (Microsporidia, Marinosporidia) из трехиглой колюшки *Gasterosteus aculeatus* (Actinopterygii, Gasterosteiformes) как самостоятельный вид. *Паразитология* 49(2):81–91
- Токарев ЮС, Малыш ЮМ, Дубинина ЕВ, Алексеев АН (2007) Значение микроспоридий в борьбе с вредными членистоногими. *Защита и карантин растений* 12:14–16
- Токарев ЮС, Симакова АВ, Тимофеев СА, Малыш ЮМ (2016) Гостальная специфичность микроспоридий. *Паразитология* 50:446–459
- Фролов АН, Малыш ЮМ, Токарев ЮС (2008) Особенности биологии лугового мотылька (*Pyrausta sticticalis* L.) в период его низкой численности в Краснодарском крае. *Энтомологическое обозрение* 87(2):291–302
- Хлебович ВВ (2015) Презумпция морского начала в физиологии и эволюции животных. *Труды ЗИН* 319(4):536–544
- Ходжаева ЛФ, Исси ИВ (1989) Новый род микроспоридий *Cristulospora* gen. n. (Amblyosporidae) с тремя новыми видами из кровососущих комаров Узбекистана. *Паразитология* 23(2):140–145
- Шигина НГ (1986) Видовой состав, биология и возможности применения микроспоридий трематод. *Протозология* 10:167–182
- Andreadis TD, Simakova AV, Vossbrinck CR, Shepard JJ et al (2012) Ultrastructural characterization and comparative phylogenetic analysis of new microsporidia from Siberian mosquitoes: Evidence for coevolution and host switching. *J Invertebr Pathol* 109(1):59–75
- Beznoussenko GV, Dolgikh VV, Seliverstova EV, Semenov PB et al (2007) Analogs of the Golgi complex in microsporidia: structure and avascular mechanisms of function. *J Cell Sci* 120:1288–1298
- Dolgikh VV, Beznoussenko GV, Semenov PB, Sokolova YY et al (2005) Intracellular transport of secretory proteins in microsporidia occurs in the absence of small, coat-dependent vesicles. *Folia parasitol* 52:2A
- Dolgikh VV, Sokolova YY, Issi IV (1997) Activities of Enzymes of Carbohydrate and Energy Metabolism of the Spores of the Microsporidian, *Nosema grylli*. *J Euk Microbiol* 44(3):246–249
- Franzen C, Nasonova ES, Schoelmerich J, Issi IV (2006) Transfer of the Members of the genus *Brachiola* (Microsporidia) to the genus *Anncaliia* based on ultrastructural and molecular data. *J Euk Microbiol* 53(1):26–35
- Ignatieva AN, Gerus AV, Senderskiy IV, Malyshev SM (2019) Infection of *Chorthippus loratus* (Orthoptera: Acrididae) with *Liebermannia* sp. (Microsporidia) in South-Western Russia. *J Euk Microbiol* 66(4):680–683. <http://doi.org/10.1111/jeu.12699>.
- Issi IV, Lipa JJ (1968a) *Gurleya sokolovi* sp.n., a new microsporidian parasite of water mite *Limnochares aquatica* L. (Acarina, Hydrachnella) and a note on gregarine infection. *J Invertebr Pathol* 10(2):165–175
- Issi IV, Shulman SS (1968) The systematic position of Microsporidia. *Acta Protozool* 6(1):121–135
- Issi IV, Tokarev YS, Voronin VN, Dolgikh VV et al (2010) Ultrastructure and molecular phylogeny of *Mrazekia macrocyclopis* sp. n. (Microsporidia, Mrazekiidae), a microsporidian parasite of *Macrocylopsalbidus* (Jur.) (Crustacea, Copepoda). *Acta Protozool* 49(1):75–84
- Issi IV, Tokarev YS, Seliverstova EV, Voronin VN (2012) Taxonomy of *Neoperezia chironomi* and *Neoperezia semenovaiae* comb. nov. (Microsporidia: Aquasporidia): lessons from ultrastructure and ribosomal DNA sequence data. *Eur J Protistol* 48(1):17–29
- Issi IV, Tokarev YS, Seliverstova EV, Nasonova ES (2008) Specified ultrastructural data on *Tubulinosema maroccanus* comb. n. (*Nosema maroccanus* Krilova et Nurzhanov, 1987) (Microsporidia) from the Moroccan locust *Dociostaurus maroccanus* Thunb. (Orthoptera). *Acta Protozool* 47:125–133
- Lipa JJ, Tokarev YS, Issi IV (2020) Ultrastructure, molecular phylogeny, and prevalence rates of *Alternosema bostrichidis* gen. nov. sp. nov. (Microsporidia, Terresporidia), a parasite of *Prostephanus truncatus* and *Dinoderus* spp. (Coleoptera, Bostrichidae). *Parasitol Res* 119:915–923. <http://doi.org/10.1007/s00436-020-06611-9>.
- Malyshev JM, Tokarev YS, Sitnicova NV, Martemyanov VV et al (2013) *Tubulinosema loxostegi* sp.n. (Microsporidia: Tubulinosematidae) from the beet webworm *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera: Crambidae) in Western Siberia. *Acta Protozool* 52:299–308
- Poddubnaya LG, Tokarev YS, Issi IV (2006) A new microsporidium *Paratuzetia kupermani* gen. et sp. n. (Microsporidia), a hyperparasite of the procercoid of the cestode *Khawia armeniaca* Chol. 1915 (Cestoda: Caryophyllidea). *Protistology* 4(3):269–277
- Simakova AV, Pankova TF, Tokarev YS, Issi IV (2005) *Senoma* gen. n., a new genus of microsporidia, with the type species *Senoma globulifera* comb. n. (syn. *Issia globulifera* Issi et Pankova, 1983) from the malaria mosquito *Anopheles messeae* Fall. *Protistology* 4(2):135–144
- Simakova AV, Tokarev YS, Issi IV (2009a) *Pankovaia semitubulata* gen. et sp. n. (Microsporidia: Tuzetiidae) from nymphs of mayfly *Cloeon dipterum* (L.) (Insecta: Ephemeroptera) in West Siberia. *Europ J Protistol* 45(1):13–20

- Simakova AV, Tokarev YS, Issi IV (2009b) *Tuzetia dualis* sp. n. (Microsporidia: Tuzetiidae) from the mayfly *Cloeonidipterum* (L.) (Insecta: Ephemeroptera) in West Siberia. *Protistology* 6(2):92–97
- Simakova AV, Tokarev YS, Issi IV (2018) A new microsporidium *Fibrillaspora daphnia* g.n. sp.n. infecting *Daphnia magna* (Crustacea: Cladocera) in Siberia and its taxonomic placing within a new family Fibrillasporidae and new superfamily Tubulinosematoidea (Opisthosporidia: Microsporidia). *Parasitology Research* 117(3):759–766. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5749-2>
- Sokolova OI, Demyanov AV, Owers BLC, Didier ES (2011) Emerging microsporidian infections in Russian HIV-infected patients. *J Clin Microbiol* 49(6):2102–2108
- Sokolova YY, Bowers LC, Alvarez X, Didier ES (2018) *Encephalitozoon cuniculi* and *Vittaformacorneae* (Phylum Microsporidia) inhibit staurosporine-induced apoptosis in human THP-1 macrophages in vitro. *Protistology* 146(5):569–579. <https://doi.org/10.1017/S0031182018001968>
- Sokolova YY, Dolgikh VV, Morzhina EV, Nasonova ES et al (2003) Establishment of the new genus *Paranosema* based on the ultrastructure and molecular phylogeny of the type species *Paranosema grylli* gen. nov., comb. nov. (Sokolova, Seleznirov, Dolgikh, Issi, 1994), from the cricket *Gryllus bimaculatus* Deg. *J Invertebr Pathol* 84(3):159–172
- Sokolova YY, Issi IV, Voronin VN (2018) Annotated list of species of the Microsporidia described in the Former Soviet Union and Russia in 20th century (1967–2000). *Protistology* 12(1):12–37
- Sokolova Y, Snigirevskaya E, Morzhina E, Skarlato S et al (2001) Visualization of early Golgi compartments at proliferate and sporogenic stages of a microsporidian *Nosema grylli*. *J Euk Microbiol* 86–87
- Tokarev YS, Voronin VN, Seliverstova EV, Issi IV (2010a) Life cycle, ultrastructure and molecular phylogeny of *Crispospora chironomi* g.n. sp.n. (Microsporidia: Terresporidia), a microsporidian parasite of *Chironomus plumosus* L. (Diptera: Chironomidae). *Parasitol Res* 107:1381–1389
- Tokarev YS, Voronin VN, Seliverstova EV, Pavlova OA (2012) Ultrastructural and molecular study of *Helmichia lacustris* Voronin, 1998 (Microsporidia: Terresporidia) from *Chironomus plumosus* L. (Diptera: Chironomidae). *Parasitol Res* 110:1201–1208
- Tokarev YS, Huang WF, Solter LF, Malysh JM (2020) A formal redefinition of the genera *Nosema* and *Vairimorpha* (Microsporidia: Nosematidae) and reassignment of species based on molecular phylogenetics. *J Invertebr Pathol* 169:107279. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107279>
- Tokarev YS, Malysh JM, Kononchuk AG, Seliverstova EV et al (2015) Redefinition of *Nosema pyrausta* (*Perezia pyraustae* Paillot 1927) basing upon ultrastructural and molecular phylogenetic status. *Parasitol Res* 144:759–761
- Tokarev YS, Peat KM, Malysh JM, Senderskiy IV (2018a) Discovery of a novel microsporidium in laboratory colonies of Mediterranean cricket *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera: Gryllidae): *Microsporidium grylli* sp. nov. *Parasitol Res* 117:2823–2829. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5970-z>
- Tokarev YS, Sokolova YY, Vasilieva AA, Issi IV (2018b) Molecular and morphological characterization of *Anncaliia azovica* sp.n. (Microsporidia) infecting *Niphargogammarus intermedius* (Crustacea: Amphipoda) from the Azov sea. *J Euk Microbiol* 65(3):296–307
- Tokarev YS, Zinatullina ZY, Ignatieva AN, Zhigileva ON et al (2018c) Detection of two Microsporidia pathogens of the European honey bee *Apis mellifera* (Insecta: Apidae) in Western Siberia. *Acta Parasitol* 63(4):728–732. <https://doi.org/10.1515/ap-2018-0086>

Translation of Russian References

- Alikhanov ShG (1973) [Changes in the sex ratio of mosquitoes *Aedes caspius caspius* (Pall.) upon infection of natural populations with microsporidia of *Thelohania opacita* Kudo, 1922]. *Parazitologiya* 7(2):370–373 (In Russian)
- Vedmed AI, Krylova SV, Issi IV (1991) [New genus *Pulicispora* g. n. microsporidia from fleas]. *Parazitologiya* 25(1):13–20 (In Russian)
- Veremchuk GV, Issi IV (1970) [On the development of insect microsporidia in entomopathogenic nematodes]. *Parazitologiya* 4(1):3–7 (In Russian)
- Voronin VN (1986) [Crustacean microsporidia]. *Protozoologiya* 10:135–166 (In Russian)
- Voronin VN (2001) [About a macro system like Microsporidia]. *Parazitologiya* 35(1):35–44 (In Russian)
- Voronin VN, Melnikova OYu (1984) [Vavraia cyclocypris sp.n. – the first find of microsporidia (Microsporidia) from ostracods]. *Parazitologiya* 18(6):482–484 (In Russian)
- Gazimagomedov AA, Issi IV (1970) [Microsporidia – parasites of fish of the Caspian Sea]. *Zoologicheskii zhurnal* 49(8):1117–1125 (In Russian)
- Dogel VA (1947) *Kurs obshchey parazitologii* [General parasitology course] L.: Uchpedgiz. 372 c. (In Russian)
- Dolgikh VB, Senderskiy IV, Pavlova OA, Beznousenko GV (2010a) [Analysis of gene expression of vesicular transport in avascular cells of *Paranosema* (*Antonospira*) *locustae* microsporidia]. *Tsitologiya* 52:5–11 (In Russian)
- Dolgikh VV, Grigoryev MV, Sokolova YuYa, Issi IV (1995) [Influence of infection with microsporidia *Nosema grylli* and coccidia *Adelina* sp. on the activity and composition of lactate dehydrogenase isoenzymes in the fat body of crickets *Gryllus bimaculatus*]. *Parazitologiya* 29(6):520–524 (In Russian)
- Dolgikh VV, Grigoryev MV, Sokolova YuYa, Issi IV (1996) [Comparative study of the effects of *Nosema grylli* microsporidia and *Adelina* sp. Coccidia on the development of ovaries and the activity of three dehydrogenases in the fat body of female crickets *Gryllus bimaculatus*]. *Parazitologiya* 30(1):70–75 (In Russian)
- Dolgikh VV, Semenov PB, Grigoryev MV (2002) [Features of the energy metabolism of *Nosema grylli* microsporidia in intracellular development]. *Parazitologiya* 36:493–501 (In Russian)
- Dolgikh VV, Pavlova OA, Senderskiy IV, Pen G (2010b) [The secretory proteins of microsporidia *Paranosema locustae* and their participation in the pathogenic effect on the body of the locust migratory *Locusta migratoria*]. *Vestnik zashchity rasteniy* 1:48–51 (In Russian)
- Dolgikh VV (1998) [The effect of *Nosema grylli* microsporidia and *Adelina grylli* coccidia on the activity of four enzymes of energy and carbohydrate metabolism in the fat body of *Gryllusbimaculatus* crickets]. *Parazitologiya* 32:464–469 (In Russian)

- Dolgikh VV, Senderskiy IV, Pavlova OA, Naumov AM (2011) [Unique features of the energy metabolism of microsporidia as a result of prolonged adaptation to intracellular development]. *Parazitologiya* 45:147–157 (In Russian)
- Efimenco TM, Issi IV, Sokolova YuYa (1990) [On the sexual transmission of *Vairimorpha antheraeae* microsporidia in the scoop (Noctuidae)]. *Parazitologiya* 24(1):47–53 (In Russian)
- Issi IV (1963a) [Microsporidiosis of cabbage whitewash]. *Zashchita rasteniy* 12:42–43 (In Russian)
- Issi IV (1963b) [Protozoonosis of cabbage whale in the Leningrad Region and its significance for the prognosis]. *Trudy VIZR* 19:174–179 (In Russian)
- Issi IV (1965a) [The effect of microsporidiosis on susceptibility of cabbage white to insecticides]. *Trudy VIZR* 24:170–174 (In Russian)
- Issi IV (1965b) [Violation of the normal growth and development of caterpillars during experimental infection with their microsporidia]. *Uspekhi protozoologii* 11(91):206 (In Russian)
- Issi IV (1968a) [Microsporidia regulating the number of harmful species]. *Trudy VIZR* 31:300–330 (In Russian)
- Issi IV (1968b) [The effect of microsporidiosis on the fecundity of unpaired silkworm *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Orgyidae) in a number of generations]. *Trudy VIZR* 31:331–339 (In Russian)
- Issi IV (1968c) [*Stempellia rubtsovi* sp.n. (Microsporidia, Nosematidae) – a parasite of the larvae of the Caucasian midge *Odagmia ornata*]. *Acta Protozoologica* 6(30):347–354 (In Russian)
- Issi IV (1979a) [Microsporidiosis of the large pine weevil *Hyllobius abietis* L. (Coleoptera, Curculionidae)]. *Zoologicheskii zhurnal* 58(10):1596–1599 (In Russian)
- Issi IV (1979b) [Microsporidiosis in the poppies *Amata phegea* R. (Lepidoptera, Amatidae)]. *Bulleten VIZR* 44:7–12 (In Russian)
- Issi IV (1980a) [Epizootology of microsporidiosis of cabbage whale *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera, Pieridae)]. In: Novozhilov KV et al (eds) *Perspektivy ispolzovaniya mikroorganizmov v zashchite rasteniy* [Prospects for the use of microorganisms in plant protection] L.: VIZR. 5–16 (In Russian)
- Issi IV (1980b) [State of the Question and Problems of the Mass Breeding of Microsporidia]. In: Novozhilov KV et al (eds) *Perspektivy ispolzovaniya mikroorganizmov v zashchite rasteniy* [Prospects for the use of microorganisms in plant protection] L.: VIZR. 82–88 (In Russian)
- Issi IV (1986) [Microsporidia as a type of parasitic protozoa]. *Protozoologiya*. 10:6–135 (In Russian)
- Issi IV (2002) [Parasitic systems of microsporidia. Description and terminology issues]. *Parazitologiya* 36(6):478–492 (In Russian)
- Issi IV, Bykova KHI, Krylova SV, Sokolova YuYa (1989) [Microsporidia *Ameson hybomitrae* sp.n. (Microsporidia, Pereziidae) from horseflies of Karelia]. *Parazitologiya* 23(1):66–74 (In Russian)
- Issi IV, Voronin VN (1979) [The current state of the issue of bicuspid genera of microsporidia]. *Parazitologiya* 13(2):150–158 (In Russian)
- Issi IV, Voronin VN (1984) [Microsporidia type]. In: Bykhovskiy BE (ed) *Opredelitel parazitov presnovodnykh ryb* [The identification key of parasites of freshwater fish]. L.: Nauka. 73–87 (In Russian)
- Issi IV, Voronin VN (2007) [Type Microsporidia Microsporidia]. In: Alimov AF (ed) *Rukovodstvo po zoologii. Protisty. Chast 2*. [Guide to Zoology. Protista Part 2]. RAN. 994–1045 (In Russian)
- Issi IV, Voronin VN, Shibalova TA, Likholtov AI (1985) [Ultrathin structure of *Neoperezia chironomi* microsporidia at sporogony stages]. *TSitologiya* 27(2):142–147 (In Russian)
- Issi IV, Dolgikh VV, Sokolova YuYa, Tokarev YuS (2005) [Pathogenicity factors of microsporidia – intracellular insect parasites]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3:16–25 (In Russian)
- Issi IV, Dolgikh VV, Tokarev YuS (2011) [Can the spores of microsporidia be called a resting stage?]. *Parazitologiya* 45(4):324–337 (In Russian)
- Issi IV, Kadyrova MK, Pushkar YeN, Khodzhayeva LF et al (1991) *Mikrosporidii moshek (opredeleniye i kratkoye opisanie vidov mirovoy fauny* [Microsporidia of midges (identification and brief description of species of world fauna). «FAN»: Uzbekistan. 123 p. (In Russian)
- Issi IV, Krylova SV (1987) [Locust microsporidia. Locusts, ecology and control measures]. L.: VIZR. 58–62 (In Russian)
- Issi IV, Krylova SV, Nikolayeva VM (1993) [Ultrathin structure of microsporidia *Nosema meligethi* Issy and Radishchev 1979, and justification of the new genus *Anncaliia* g.n.]. *Parazitologiya* 27(2):127–133 (In Russian)
- Issi IV, Maslennikova VA (1966) [The role of *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera, Braconidae) in the transmission of *Nosema polyvora* Blunck (Protozoa, Microsporidia)]. *Entomologicheskoye obozreniye* 45(3):494–499 (In Russian)
- Issi IV, Pankova TF (1983) [A new species of microsporidia *Issia globulifera* from the *Anopheles maculipennis* malaria mosquito]. *Parazitologiya* 17(3):189–194 (In Russian)
- Issi IV, Radishcheva DF, Dolzhenko VI (1983) [Microsporidia of flies of the genus *Delia*, harmful to crops]. *Bulleten VIZR* 55:3–9 (In Russian)
- Issi IV, Simchuk PM, Radishcheva DF (1980) [Microsporidiosis of the meadow moth *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyralididae)]. *Bulleten VIZR* 48:3–6 (In Russian)
- Issi IV, Tkach MT (1975) [Mass infection of *Nosema hydraeciae* microsporidia of the Leningrad population of the potato scoop *Hydraecia micacea* Esp. (Noctuidae)]. *Trudy VIZR* 42:70–78 (In Russian)
- Issi IV, Tokarev YuS (2002) [The effect of microsporidia on the hormonal state of host insects]. *Parazitologiya* 36(5):405–421 (In Russian)
- Issi IV, Chervinskaya VP (1969) [On the influence of temperature conditions on the development of microsporidia *Nosema mesnili* and *Pleistophora schubergi* (Microsporidia, Nosematidae)]. *Zoologicheskii zhurnal* 48(8):1140–1146 (In Russian)
- Issi IV, Shulman SS (1967) [On the systematic position of microsporidia]. *Parazitologiya* 1(2):151–157 (In Russian)
- Kilochitskiy PYa, Issi IV (1978) [Joint parasitization of microsporidia (Microsporidia, Nosematidae) and mermitid (Nematoda, Mermitidae) of street blood-sucking mosquitoes (Diptera, Culicidae)]. *Parazitologiya* 12(5):422–425 (In Russian)
- Kolchevskaya YeN, Issi IV (1991) [The effect of host change on the pathogenicity and spore formation of microsporidia]. *Parazitologiya* 25(6):512–519 (In Russian)
- Metspalu LR, Khiyesaar KR (1984) [The effect of microsporidiosis on the physiological state of rest in insects]. *Protozoologiya* 9:114–127 (In Russian)

- Pavlyushin VA, Issi IV, Tokarev YuS (2013) [Entomopathogenic microsporidia (Eukarya: Opisthokonta: Microsporidia): possibilities of use against harmful insects]. *Vestnik zaschity rasteniy* 2:3–12 (In Russian)
- Pankova TF, Issi IV, Simakova AV (2000) [New species of microsporidia of the genus *Amblyospora* from blood-sucking mosquitoes of the family Culicidae]. *Parazitologiya* 34(5):420–427 (In Russian)
- Polyanskiy YuI (1955) [Materials on the parasitology of fish of the northern seas of the USSR]. *Trudy ZIN* 19:5–170 (In Russian)
- Simakova AV, Pankova TF (2005) [Six new species of microsporidia of the genus *Amblyospora* (Microspora: Amblyosporidae) from blood-sucking mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Western Siberia]. *Parazitologiya* 19(5):371–385 (In Russian)
- Simakova AV, Pankova TF (2008) [Ecology and Epizootology of Microsporidia of Malaria Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the South of Western Siberia]. *Parazitologiya* 42(2):139–149 (In Russian)
- Simchuk PA, Issi IV (1975) [*Pleistophora carpocapsae* sp.n. – parasite of the apple moth]. *Parazitologiya* 9(2):293–298 (In Russian)
- Sokolova YuYa, Issi IV (2001) [Entomopathogenic protozoa and pathogenesis features of protozoan insect diseases]. In: Glupov VV (ed) *Patogeny nasekomykh: strukturnyye i funktsionalnyye aspekty* [Pathogens of insects: structural and functional aspects]. M.: Kruglyy god. 76–188 (In Russian)
- Tokarev YuS, Voronin VN, Senderskiy IV, Issi IV (2015) [Microsporidia *Glugea gasterostei* Voronin 1975 (Microsporidia, Marinosporidia) from the three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* (Actinopterygii, Gasterosteiformes) as an independent species]. *Parazitologiya* 49(2):81–91 (In Russian)
- Tokarev YuS, Malysh YuM, Dubinina YeV, Alekseyev AN (2007) [Importance of microsporidia in controlling harmful arthropods]. *Zashchita i karantin rasteniy* 12:14–16 (In Russian)
- Tokarev YuS, Simakova AV, Timofeyev SA, Malysh YuM (2016) [Nutritional specialization of Microsporidia]. *Parazitologiya* 50:446–459 (In Russian)
- Frolov AN, Malysh YuM, Tokarev YuS (2008) [Biological features of the meadow moth (*Pyrausta sticticalis* L.) during its low abundance in the Krasnodar territory]. *Entomologicheskoye obozreniye* 87(2):291–302 (In Russian)
- Khlebovich VV (2015) [Presumption of the marine principle in the physiology and evolution of animals]. *Trudy ZIN* 319(4):536–544 (In Russian)
- KHodzhayeva LF, Issi IV (1989) [A new genus of microsporidia *Cristulospora* gen. n (Amblyosporidae) with three new species from the blood-sucking mosquitoes of Uzbekistan]. *Parazitologiya* 23(2):140–145 (In Russian)
- Shigina NG (1986) [Species composition, biology and application possibilities of trematode microsporidia]. *Protozoologiya* 10:167–182 (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(3), p. 161–176

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-4972>

Full-text review

DEVELOPMENT OF MICROSPORIDIOLOGY IN RUSSIA

I.V. Issi

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

e-mail: irma_issi@mail.ru

The study of microsporidia and microsporidiosis of wild animals in Russia has been initiated in the 60-s of the past century. In the European part of country, microsporidia, infecting agricultural insect pests (All-Russian Institute of Plant Protection), freshwater arthropods and fishes (State Research Institute of Lake and River Fisheries) and the blood-sucking insects such as horseflies (Biology Institute, Karelian Scientific Center) were studied. In the Western Siberia, microsporidia of blood-sucking mosquitoes were studied (Tomsk University). As a result, by 2000, as many as 118 species and 47 genera of microsporidia were found, including 20 taxa new to science, from 100 animal species. Currently, descriptions of new taxa and taxonomic revision of the previously described taxa are performed using the molecular phylogenetic analysis. The novel data on speciation of microsporidia have been obtained, and the coevolution of parasites and their host insects have been confirmed for microsporidia of blood-sucking mosquitoes. During the study of the structure and physiology of microsporidia, it has been demonstrated, that the secretory proteins of microsporidia migrate into the nucleus of the host cell; the factors of parasites suppressing host cell apoptosis and the presence of specific organelles related to the energy metabolism have been revealed; the mitosomes have been found in the spores and not the prespore stages of microsporidia. The role of the Golgi complex in the formation of the extrusion apparatus, as well as the absence of the vesicular secretory transport in microsporidia, has been shown for the first time. For the first time in Russia, cases of microsporidia infection in HIV-infected patients have been identified. Currently, attention is paid to the development of a new universal taxonomic system of microsporidia combining molecular characteristics with a description of the structural and developmental features of each taxon of the parasites. Microsporidia possess many remarkable structural and functional differences from any other organisms thus substantiating an independent field of biological research: “microsporidiology”.

Keywords: microsporidia, intracellular parasitism, evolution, ecology, plant protection

Received: 31.03.2020

Accepted: 10.05.2020

ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ РАЗНЫХ ВИДОВ КОРМОВЫХ КЛЕЩЕЙ ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ *AMBLYSEIUS SWIRSKII* И *NEOSEIULUS CUCUMERIS* (MESOSTIGMATA, PHYTOSEIIDAE)

Л.П. Красавина, О.В. Трапезникова*

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

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

Определена возможность разведения хищных клещей *Neoseiulus cucumeris* и *Amblyseius swirskii* на кормовых клещах – гниломудном удлинённом (*Tyrophagus putrescentiae*) и сухофруктовом (*Carpoglyphus lactis*) при совместном и раздельном содержании. Все варианты опыта проводили в 5 кратной повторности в течение 25 суток при температуре 23–25 °С, длине светового дня 18 ч и относительной влажности 85–90%. При раздельном содержании кормовых клещей через 25 суток от начала эксперимента численность *T. putrescentiae* превысила численность *C. lactis* в 1.3 раза. При их совместном разведении за это же время *T. putrescentiae* почти полностью вытеснил *C. lactis*: его численность превысила численность сухофруктового клеща в 118 раз. При совместном разведении хищных клещей в течение 25 суток на *T. putrescentiae* численность *N. cucumeris* превысила численность *A. swirskii* в 9.1 раза, а при разведении на *C. lactis* – в 3.2 раза. Результаты исследований указывают на возможность разведения *N. cucumeris* на обоих видах корма, в то время как *A. swirskii* на гниломудном удлинённом клеще даёт увеличение численности только в первые две недели. *N. cucumeris* способен поддерживать высокую численность на разных видах кормовых клещей, вследствие чего обладает более высокой конкурентоспособностью по сравнению с *A. swirskii*. При содержании разных видов клещей необходимо соблюдение полной изоляции видов друг от друга для предотвращения их смешения.

Ключевые слова: *Carpoglyphus lactis*, *Tyrophagus putrescentiae*, массовое разведение, хищные клещи, конкуренция

Поступила в редакцию: 12.12.2019

Принята к печати: 17.08.2020

Введение

В настоящее время биологический метод защиты растений в закрытом грунте становится все более востребованным. Среди естественных врагов трипсов, белокрылок и паутинных клещей на овощных и декоративных культурах применяются следующие виды хищных клещей: *Neoseiulus cucumeris* Oudemans, *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot, *Neoseiulus barkeri* Hughes, *Transeius montdorensis* Schicha, *Neoseiulus californicus* McGregor и *Amblyseius andersoni* Chant (Бегляров, Сучалкин, 1985, Сучалкин, 1987, Доброхотов, 2008, Мешков, Салобукина 2013, Ахатов, 2015, Ильницкая, 2015, Bolckmans, 2005). Для их разведения в лабораторных условиях проводятся поиски доступных и технологичных методик. Разрабатываются новые виды корма, получение которых в лаборатории является более экономичным, чем традиционное использование кормовых клещей, разводимых на отрубях. В частности, были оценены искусственные диеты, состоящие из меда, сахарозы, пыльцы, перги, триптона, яичного желтка, гемолимфы черной львинки (*Hermetia illucens* Linnaeus), яиц мельничной огневки (*Ephesia kuehniella* Zeller), яиц ракообразных рода артемия (Nguyen et al., 2014, 2015, Delisle et al., 2015). Тем не менее, основным видом корма для хищных клещей остаются кормовые клещи. В нашей стране для этого используют гниломудного удлинённого (*Tyrophagus putrescentiae* Schrank), сухофруктового (*Carpoglyphus lactis* Linnaeus) и мучного (*Acarus farris* Oudemans) клещей, которых разводят на пшеничных отрубях и затем переносят к хищным клещам (Доброхотов, 2008).

Гниломудный удлинённый клещ известен как опасный вредитель зерна и продуктов его переработки,

характеризующийся высокой скоростью развития. Оптимальные параметры его лабораторного содержания – температура 25–30 °С, относительная влажность 90%. При температуре ниже 5 °С клещи сохраняют жизнеспособность, но перестают размножаться. *T. putrescentiae* способен развиваться в теплицах на растительных остатках и повреждать рассаду, в результате чего растения ослабевают (Ахатов и др., 2013).

Сухофруктовый клещ является вредителем запасов сухофруктов. Оптимальные условия размножения клеща – температура 28 °С и влажность 80% (Güldal, Çobanoğlu, 2011). При содержании *C. lactis* в лаборатории было выяснено, что вид разводится не на всех видах отрубей, получаемых из мукомольных комбинатов, и ему желательны добавки муки сушеных яблок или пыльцы яблони.

В настоящее время в лаборатории биологической защиты растений ВИЗР разводятся два вида хищных клещей – *A. swirskii* и *N. cucumeris*.

Широкое применение *A. swirskii* объясняется его полифагией – вид применяют против табачной (*Bemisia tabaci* Gennadius) и тепличной (*Trialetrodes vaporariorum* Westwood) белокрылок, а также против западного цветочного трипса (*Frankliniella occidentalis* Pergande) (Nomikou et al., 2001, Bolckmans et al., 2005, Gerben et al., 2006). *A. swirskii* особенно эффективен на сладком перце: после выпуска вид остается на листьях в течении 4 недель, а на цветках до – 10 недель.

A. swirskii был интродуцирован в СССР (Аджария) из Израиля в семидесятых годах прошлого века на цитрусовые культуры в качестве акарифага красного цитрусового клеща (*Panonychus citri* McGregor). Для разведения

этого вида С.Г. Вартапетов (1978) использовал паутинного (*Tetranychus urticae* Koch) и красного цитрусового клещей.

Оптимальная температура для разведения *A. swirskii* – 25–32 °С, относительная влажность – выше 70 % (Bolckmans et al., 2005). При температуре 25 °С и относительной влажности 50.5 % из яиц выходит только 3 % личинок, а при 69 % относительной влажности – 45 % личинок (Bolckmans et al., 2005).

N. cucumeris первоначально был обнаружен на дыне во Франции. Вид широко распространен в регионах с теплым климатом. В Россию лабораторная культура была ввезена из Западной Европы (Ахатов, Ижевский, 2004). Впервые технологию лабораторного разведения разработали в институте фитопатологии, в последствии она стала основной во многих хозяйствах СССР (Сучалкин, 1987). Методы разведения и применения вида были усовершенствованы Доброхотовым (2008). По его рекомендациям, *N. cucumeris* нужно использовать против западного цветочного трипса. Хищник сохраняется на растениях в теплице до трех недель, демонстрируя биологическую эффективность 90 % (Доброхотов, 2008). В дальнейшем, способ разведения вида был запатентован (Красавина и др., 2009), при этом показано, что оптимальными условиями являются температура 23 °С и относительная влажность воздуха выше 60 %. *N. cucumeris* чувствителен к температурам выше 30 °С и менее чувствителен к снижению относительной влажности воздуха (Мешков, Салобукина, 2013).

При массовом разведении в одной лаборатории нескольких видов клещей обычно соблюдается строгая изоляция видов друг от друга, но, несмотря на это, может произойти их смешивание. В результате, между видами возникают конкурентные отношения. Выигрывает вид, лучше приспособленный к условиям содержания.

Материалы и методы

Исследования проводили с популяциями хищных клещей *N. cucumeris* (получен из Санкт-Петербургского аграрного университета), *A. swirskii* (привезен из Египта) и кормовых клещей – гнилостного удлиненного и сухофруктового (выделены нами из субстрата с хищными клещами, которые были поставлены в тепличные комбинаты зарубежными фирмами).

Все варианты опыта проводили в 5 кратной повторности в течение 25 суток при температуре 23–25 °С, длине светового дня 18 ч и относительной влажности 85–90 %. Влажность поддерживали с помощью залитой в эксикатор воды. В качестве кормового субстрата использовали пшеничные отруби «Здоровка», произведенные в Санкт-Петербурге. Отруби с клещами помещали в стеклянных чашах объемом 1 л в плотно закрытые эксикаторы объемом 10 л. Начальный объем отрубей составлял 200 мл при высоте слоя 1.5 см и при плотности содержания кормовых клещей около 120 особей в 1 см³. Учет клещей проводили под бинокуляром в 16-кратном увеличении в 5 полях

Результаты

Кормовые клещи. Было установлено, что плотность гнилостного удлиненного клеща за 25 суток при отдельном содержании увеличилась с 102.4 ± 22.71 до 3107.8 ± 56.47 особей в 1 см³ (среднее \pm ошибка среднего). Сухофруктовый клещ за это время увеличил свою плотность с 124 ± 2.77 до 2400 ± 83.67 особей в 1 см³ (рис. 1).

Экологические требования даже близких видов никогда не совпадают полностью, и, даже при общем сходстве требований, виды в чем-то отличаются друг от друга. Первоначально, интенсивность размножения одного вида обычно чуть больше, чем другого, и постепенное исчезновение в культуре одного из видов – всего лишь дело времени, т.к. с каждым поколением все больше и больше ресурсов оказывается захваченными более конкурентоспособным видом (Чернова, Былова, 1981).

Целью нашей работы было подобрать оптимальный корм для разведения *A. swirskii* в лаборатории и определить его конкурентоспособность с *N. cucumeris*.

Создание и воспроизводство лабораторной культуры энтомоакарифагов предусматривает нахождение параметров, позволяющих рассчитывать относительную численность особей, находящихся в развитии. Из биотических факторов при разведении культуры в лаборатории главными являются пища и взаимоотношение с другими организмами. (Тамарина, 1990). Хотя основным показателем качества энтомоакарифага остается его эффективность в агроценозе, в ходе разведения необходимо фиксировать набор репродуктивных показателей, которые позволяют ввести вид в культуру и определить условия содержания искусственной популяции с заданными свойствами (Белякова, 2005).

В задачи наших исследований входило определение динамики численности сухофруктового (*C. lactis*) и гнилостного удлиненного (*T. putrescentiae*) клещей при их отдельном и совместном содержании, а также влияние этих видов в качестве корма на численность хищных клещей *N. cucumeris* и *A. swirskii* при совместном и отдельном содержании.

зрения в 1 см³.

Эксперименты проводили при отдельном и совместном содержании культур клещей. При совместном разведении кормовых клещей их начальная численность составляла, в среднем, по 60 особей каждого вида в 1 см³. При их отдельном содержании начальная численность каждого вида составляла, в среднем, 120 особей в 1 см³. Учет проводили по преимагинальным стадиям (кроме стадии яйца) и имаго.

При отдельном содержании на разных видах корма хищных клещей (*N. cucumeris* и *A. swirskii*) их начальная плотность составляла, в среднем, по 10 особей в 1 см³. При их совместном содержании на разных видах корма начальная плотность составляла по 5 особей каждого вида в 1 см³. При уменьшении плотности кормовых клещей в отрубях титр доводили до исходного. Учет проводили по имаго.

При статистической обработке результатов использовался t-критерий Стьюдента.

При совместном разведении этих видов через 25 суток численность гнилостного удлиненного клеща изменилась с 61.6 ± 1.03 до 1392.2 ± 59.08 особей в 1 см³, в то время как численность сухофруктового клеща снизилась с 56.2 ± 5.35 до 11.8 ± 1.28 особей в 1 см³, что свидетельствует о его вытеснении гнилостным удлиненным клещом (рис. 2).



Рисунок 1. Изменение плотности сухофруктового и гнилостного удлинённого клещей при раздельном содержании
Figure 1. Density changes of *Carpoglyphus lactis* and *Tyrophagus putrescentiae* during separate rearing

Хищные клещи. В начале рассмотрим раздельное содержание *A. swirskii* и *N. cucumeris* на обоих видах кормовых клещей.

При разведении *A. swirskii* на сухофруктовом клеще при начальном количестве 9.2 ± 0.58 особей в 1 см^3 через 25 суток численность достигла 19.2 ± 0.58 особей в 1 см^3 , а на гнилостном удлинённом клеще численность хищника снизилась с 8.6 ± 0.24 до 4.2 ± 0.73 особей в 1 см^3 (рис. 3). Следует отметить, что на гнилостном удлинённом клеще в первые 14 суток *A. swirskii* увеличил свою численность до 13.6 ± 0.93 особей в 1 см^3 . В дальнейшем, в связи с высокой скоростью развития кормового клеща *T. putrescentiae*, произошло увеличение его плотности в отрубях, что привело

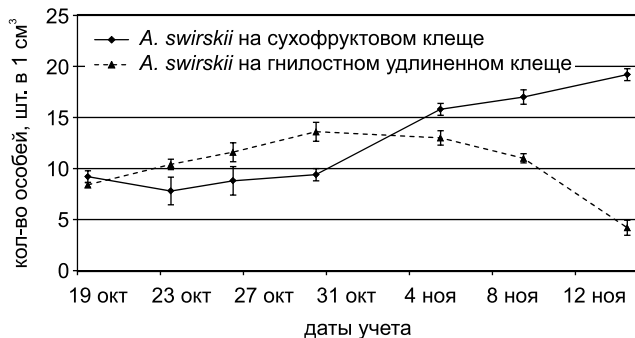


Рисунок 3. Изменение плотности *Amblyseius swirskii* на гнилостном удлинённом и сухофруктовом клещах при раздельном содержании (учет по имаго)
Figure 3. Density changes by days of count of *Amblyseius swirskii* feeding *Carpoglyphus lactis* and *Tyrophagus putrescentiae* during separate rearing (adult stage scoring)

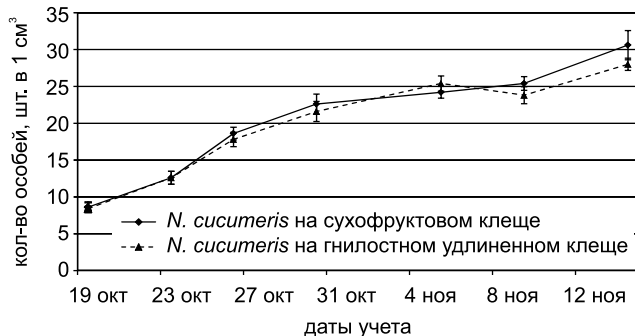


Рисунок 4. Изменение плотности *Neoseiulus cucumeris* на гнилостном удлинённом и сухофруктовом клещах по дням учета при раздельном содержании (учет по имаго)
Figure 4. Density changes by days of count of *N. cucumeris* feeding *Carpoglyphus lactis* and *Tyrophagus putrescentiae* in separate maintenance (imago registration)

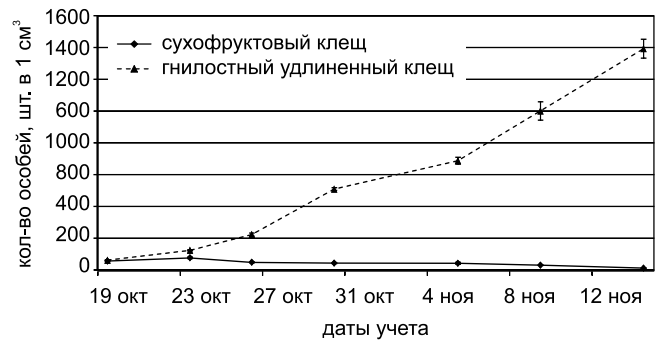


Рисунок 2. Изменение плотности сухофруктового и гнилостного удлинённого клещей при совместном содержании
Figure 2. Density changes of *Carpoglyphus lactis* and *Tyrophagus putrescentiae* during conjoint rearing

к снижению численности хищного клеща.

У *N. cucumeris* увеличение численности за 25 суток на сухофруктовом клеще составило от 8.6 ± 0.68 до 30.6 ± 1.99 особей в 1 см^3 , а на гнилостном удлинённом клеще – от 8.4 ± 0.24 до 28 ± 0.84 особей в 1 см^3 (рис. 4).

При совместном разведении обоих хищных видов на сухофруктовом клеще за 25 суток численность *N. cucumeris* возросла с 5.0 до 29.2 ± 1.5 особей в 1 см^3 , а *A. swirskii* – с 5.0 до 9.2 ± 0.8 особей в 1 см^3 (рис. 5).

При совместном разведении *N. cucumeris* и *A. swirskii* на гнилостном удлинённом клеще численность *N. cucumeris* возросла с 5.0 до 27.2 ± 1.42 особей в 1 см^3 , а численность *A. swirskii* снизилась с 5.0 до 3 ± 0.63 особей в 1 см^3 (рис. 6).

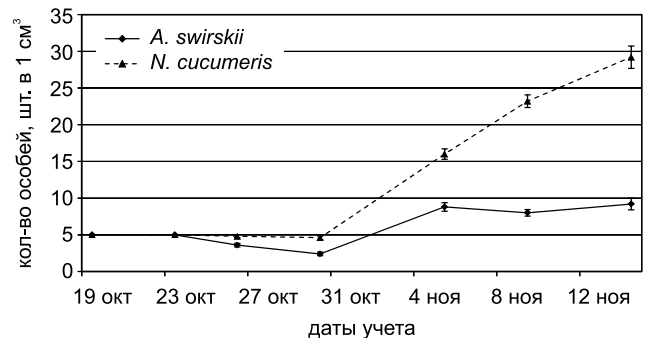


Рисунок 5. Изменение плотности *Neoseiulus cucumeris* и *Amblyseius swirskii* при совместном содержании на сухофруктовом клеще (учет по имаго)
Figure 5. Density changes of *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* during conjoint rearing on *Carpoglyphus lactis* (adult stage scoring)

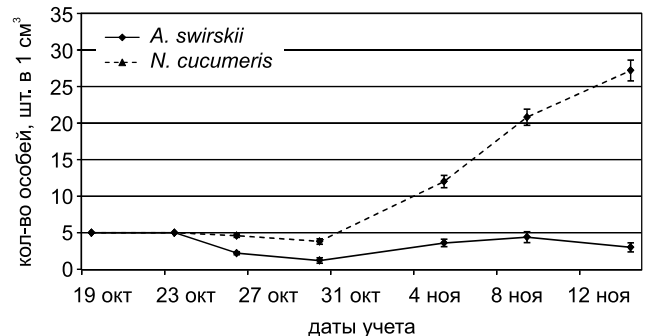


Рисунок 6. Изменение плотности *Neoseiulus cucumeris* и *Amblyseius swirskii* при совместном содержании на гнилостном удлинённом клеще (учет по имаго)
Figure 6. Density changes of *Neoseiulus cucumeris* and *Amblyseius swirskii* rearing together on *Tyrophagus putrescentiae* (adult stage scoring)

Обсуждение

Как было отмечено выше, при разведении в одной лаборатории нескольких видов клещей регулярно происходит их смешивание, при этом уменьшается способность каждого вида овладевать ресурсами, и в результате конкуренции происходит вытеснение одного из видов (Красавина, 2012). В такой ситуации важно оценить возможное негативное воздействие видов друг на друга.

При совместном разведении кормовых клещей *T. putrescentiae* и *C. lactis* за 25 суток численность гнилостного удлиненного клеща превзошла численность сухофруктового клеща в 118 раз. Причина почти полного вытеснения *C. lactis* возможно связана с более быстрым развитием *T. putrescentiae*: при раздельном разведении этих видов через 25 суток численность гнилостного удлиненного клеща оказалась в 1.3 раза выше, чем численность сухофруктового клеща.

Раздельное разведение хищных клещей на разных видах корма показало следующие результаты. При разведении *A. swirskii* на *C. lactis* его плотность увеличилась за 25 суток в 2 раза. При разведении этого вида на *T. putrescentiae* его плотность в течение первых 14 суток опыта возросла в 1.6 раза, а в последующие дни снизилась в 2 раза от первоначальной (рис. 3, 4). Из этого можно сделать вывод, что

Авторы выражают искреннюю благодарность д.б.н. З.А. Федотовой (Санкт-Петербург) за определение клещей, к.б.н. С.А. Доброхотову (Санкт-Петербург) за предоставление культуры *N. cucumeris* и А.Э.С. Касему (Александрия, Египет) за предоставление культуры *A. swirskii*.

Библиографический список (References)

- Ахатов АК (2015) Спасаем розы от *Echinotrips americanus* Moggan. *Гавриш*, 1: 77.
- Ахатов АК, Ганнибал ФБ, Мешков ЮИ, Джалилов ФС, и др (2013) Болезни и вредители овощных культур и картофеля. М.: Товарищество научных изданий КМК. 455 с.
- Ахатов АК, Ижевский СС (2004) Вредители тепличных и оранжерейных растений (морфология, образ жизни, вредоносность, борьба). М.: Товарищество научных изданий КМК. 307 с.
- Бегляров ГА, Сучалкин ФА (1985) Методические указания по биологическому методу борьбы с табачным трипсом в защищенном грунте. М.: Колос. 40 с.
- Белякова НА (2005) Энтомофаги для теплиц: отбор видов, формирование культур, контроль их качества. Второй всероссийский съезд по защите растений. Фитосанитарное оздоровление экосистем том 2. СПб: 13
- Вартапетов СГ (1978) Фитосейды (Parasitiformes, Phytoseiidae) Аджарии (видовой состав, биологические особенности, перспективы использования местных и интродуцированных видов). *Автореф. дис. ... к.б.н.* М. 27 с.
- Доброхотов СА (2008) Совершенствование методов разведения применения хищных клещей из рода *Amblyseius* для борьбы с трипсами в теплицах. *Автореф. дис. ... к.б.н.* СПб. 19 с.
- Ильницкая ВИ (2015) Макролофус и амблисейусы против больших проблем. *Гавриш*. 3: 77.
- Красавина ЛП (2012) Возможность конкурентного вытеснения между разными видами афидийд (Hymenoptera, Aphidiidae) при массовом разведении в лаборатории. Материалы 14 съезда русского энтомологического общества. СПб.: 218.
- Красавина ЛП, Белякова НА, Зуева ЛИ, Осемеж НС и др (2009) Способ разведения хищного клеща амблисейуса на размножение *A. swirskii* влияет количество кормового клеща в отрубях. Численность *N. cucumeris* за 25 суток при разведении на *C. lactis* увеличилась в 3.5 раза, а на *T. putrescentiae* – в 3.3 раза. Результаты исследований указывают на возможность разведения *N. cucumeris* на обоих видах корма, в то время как *A. swirskii* на гнилоственном удлиненном клеще дает увеличение численности только в первые две недели.
- При совместном содержании двух видов хищных клещей за 25 суток на сухофруктовом клеще численность *N. cucumeris* возросла в 5.8 раза, а численность *A. swirskii* – в 1.8 раза. При разведении на гнилоственном удлиненном клеще численность *N. cucumeris* увеличилась в 5.4 раза, а численность *A. swirskii* снизилась в 1.6 раза (рис. 5, 6). Во всех вариантах опытов уровень значимости различий по t-критерию Стьюдента – $p \leq 0.01$.
- Учитывая вышеизложенное, при содержании разных видов клещей необходимо соблюдение полной изоляции видов друг от друга для предотвращения их контаминации. *N. cucumeris* обладает более высокой конкурентоспособностью по сравнению с *A. swirskii*, т.к. он способен поддерживать высокую численность на разных видах кормовых клещей.
- Amblyseius cucumeris* Oud. Патент на изобретение RU 2351126
- Мешков ЮИ, Салобукина НН (2013) Использование хищного клеща для защиты тепличных культур от калифорнийского трипса. *Гавриш*. 2: 20–23.
- Сучалкин ФА (1987) Разработка биологического метода борьбы с табачным трипсом на огурцах в защищенном грунте. *Автореф. дис. ... к.б.н.* Голицино. 24 с.
- Тамарина НА (1990) Основы технической энтомологии. М.: Издательство московского университета. 208 с.
- Чернова НМ, Былова АМ (1981) Экология. М.: Просвещение. 255 с.
- Bolckmans K, van Houten Y, Hoogerbrugge H (2005) Biological control of whiteflies and western flower thrips in greenhouse sweet peppers with the phytoseid predatory mite *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae). Second International Symposium on Biological Control of Arthropods. Davos: 555–565.
- Delisle JF, Brodeur J, Shipp L (2015) Evaluation of various types of supplemental food for two species of predatory mites, *Amblyseius swirskii* and *Neoseiulus cucumeris* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*. 65(4): 483–494.
- Gerben J., Messelink GJ, van Steenpaal SEF, Ramakers PMJ (2006) Evaluation of phytoseiid predators for control of western flower thrips on greenhouse cucumber. *BioControl*. 51: 753–768.
- Güldalı B, Çobanoğlu S (2011). The effect of different temperatures and relative humidities on development of *Carpoglyphus lactis* (L., 1758) (Acari: Carpoglyphidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*. 35(2): 313–324.

Nguyen DT, Vangansbeke D, De Clercq P (2014) Solid artificial diets for the phytoseiid predator *Amblyseius swirskii*. *BioControl*. 59: 719–727.

Nguyen DT, Bouguet V, Spranghers T, Vangansbeke D, De Clercq P (2015) Beneficial effect of supplementing an

artificial diet for *Amblyseius swirskii* with *Hermetia illucens* haemolymph. *Applied entomology*. 139(5): 342–351.

Nomikou M, Janssen A, Schraag R, Sabelis MW (2001) Phytoseiid predators as potential biological control agents for *Bemisia tabaci*. *Experimental & Applied Acarology*. 25(4): 271–291.

Translation of Russian References

Akhatov AK (2015) [Save roses against *Echinothrips americanus* Moggan]. *Gavrish*, 1:77 (In Russian)

Akhatov AK, Gannibal FB, Meshkov YuI, Dzhaliilov FS, and al (2013) *Bolezni i vrediteli ovoshchnykh kultur i kartofela* [Diseases and pests of vegetable and potato crops]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK. 455 p. (In Russian)

Akhatov AK, Izhevskiy SS (2004) *Vrediteli teplichnykh i oranzhereinykh rastenii (morfologiya, obraz zhizni, vredonosnost, borba)* [Pests of plants in greenhouses (morphology, mode of life, harming activity, control)]. Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK]. 307 p. (In Russian)

Begliarov GA, Suchalkin FA (1985) *Metodicheskie ukazaniya po biologicheskomu metodu borby s tabachnym tripsom v zashchishchennom grunte* [Guides for biocontrol of *Thrips tabaci* in greenhouses]. Moscow: Kolos. 40 p. (In Russian)

Belyakova NA (2005) Entomophages for greenhouses: selection of species, crop formation, quality control. Second all-Russian Congress on plant protection. Phytosanitary improvement of ecosystems volume 2. SPb: 13

Vartapetov SG (1978) *Fitoseidy (Parasitiformes, Phytoseiidae) Adzharii (vidovoy sostav, biologicheskie osobennosti, perspektivy ispolzovaniya mestnykh i introdutsirovannykh vidov* [Phytoseiidae (Parasitiformes, Phytoseiidae) of Adzharia (species composition, biological features, the use of local and introduced species)]. *Abstr. PhD Thesis*. Moscow. 27 p. (In Russian)

Dobrokhotov SA (2008) *Sovershenstvovanie metodov razvedeniya i primeneniya khishchnykh kleshchei iz roda*

Amblyseius dlya borby s tripsami v teplitsakh [Improvement of methods of mass rearing and application of predatory mites of the genus *Amblyseius* for thrips control in greenhouses]. *Abstr. PhD Thesis*. St. Petersburg. 19 p. (In Russian)

Il'nitskaya VI (2015) [*Macrolophus* and *Abylseius* against big problems]. *Gavrish*. 3: 77. (In Russian)

Krasavina LP (2012) Interspecific competition among some aphid parasites (Hymenoptera, Aphidiidae) species under conditions of in-lab mass rearing]. *Materialy chetyrnadtsatogo syezda Russkogo Entomologicheskogo Obshchestva* [Proc. 14th All-Russ. Congr. REO]. St. Petersburg: 218. (In Russian)

Krasavina LP, Belyakova NA, Zuyeva LI, Osemezh NS and al (2009) [Method of mass rearing of the predatory mite *Amblyseius cucumeris* Oud.]. Patent RU 2351126. (In Russian)

Meshkov YuI, Salobukina NN (2013) [Use of a predatory mite in control of *Frankliniella occidentalis* in greenhouses]. *Gavrish*. 2:20–23. (In Russian)

Suchalkin FA (1987) *Razrabotka biologicheskogo metoda borby s tabachnym tripsom na ogurtsakh v zashchishchennom grunte* [Development of biocontrol of *Thrips tabaci* on cucumber in greenhouses]. *Abstr. PhD Thesis*. Golitsino. 24 p. (In Russian)

Tamarina NA (1990) Fundamentals of technical entomology, Moscow: Moscow University Press. 208 p.

Chernova NM, Bylova AM (1981) *Ekologiya* [Ecology]. Moscow: Prosveshchenie. 255 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(3), p. 177–181

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13943>

Full-text article

ASSESSMENT OF DIFFERENT SPECIES OF FODDER MITES FOR MASS REARING OF THE PREDATORY MITES *AMBLYSEIUS SWIRSKII* AND *NEOSEIULUS CUCUMERIS* (MESOSTIGMATA, PHYTOSEIIDAE) UNDER LABORATORY CONDITIONS

L.P. Krasavina, O.V. Trapeznikova*

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

*corresponding author, e-mail: olvet@inbox.ru

In-lab rearing of the predatory mites *Amblyseius swirskii* and *Neoseiulus cucumeris* on the fodder mites *Tyrophagus putrescentiae* and *Carpoglyphus lactis* has been assessed. The study was performed for species kept separately and together. All trials were carried out in 5-fold replications during 25 days at temperature 23–25°C, the length of daylight of 18 hours, and relative humidity of 85–90%. After 25 days, *T. putrescentiae* outnumbered *C. lactis* in 1.3 times while reared separately, and in 118 times in cases when they were reared together. After 25 days of rearing the predatory mites *N. cucumeris* and *A. swirskii* together the first one outnumbered the second one in 9.1 times while feeding on *T. putrescentiae* and in 3.2 times while feeding on *C. lactis*. The possibility of in-lab rearing of *N. cucumeris* on both species of the fodder mites was shown, while *A. swirskii* feeding on *T. putrescentiae* demonstrated the increase of its density during first two weeks only. *Neoseiulus cucumeris* is more competitive than *A. swirskii* because it can achieve high density on different species of fodder mites. Different species of mites must be strictly isolated from each other during their rearing to prevent contamination.

Keywords: *Carpoglyphus lactis*, *Tyrophagus putrescentiae*, mass rearing, predatory mites, competition

Received: 12.12.2019

Accepted: 17.08.2020

ВРЕДНОСНОСТЬ КОРНЕВИЩНЫХ И КОРНЕОТПРЫСКОВЫХ СОРНЫХ РАСТЕНИЙ В ПОСЕВАХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ И ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПИ ЮГА НЕЧЕРНОЗЕМНОЙ ЗОНЫ

А.Н. Никольский, Д.В. Бочкарев*, Т.Ф. Девяткина, Ю.Н. Недайборщ, В.Д. Бочкарев

Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва,
г. Саранск, Республика Мордовия

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

Одной из причин снижения урожайности озимой пшеницы и ярового ячменя является значительное распространение в посевах корневищных и корнеотпрысковых сорных растений. Высокая конкурентоспособность сорных растений определяется во многом особенностями их минерального питания. Накопление K_2O в бодяке щетинистом (*Cirsium setosum*) и осоте полевом (*Sonchus arvensis*) превышало накопление в культурных растениях в два раза. Содержание азота в корнях и корневищах сорных растений в 1.5–2 раза превышало содержание у культурных растений. На общий вынос элементов питания сорными растениями оказывает влияние их ярус. Сорные растения, интенсивно произрастающие в среднем и верхнем ярусах, способствовали большему выносу элементов питания из почвы. Вынос азота сорными растениями составил 14–43% от выноса культурными растениями, фосфора – 4–12%, калия – до 80%. Существенное снижение (> 10%) урожайности ячменя отмечалось при плотности популяции 5–10 многолетних сорных растений на 1 м² в нижнем ярусе. Озимая пшеница была более устойчива, снижение в 10% отмечено при 11–15 шт/м² в нижнем ярусе. Снижение урожайности для обеих культур на уровне 10–15% отмечено при плотности популяции 5–10 шт/м² в верхнем ярусе. При уровне 5% потерь урожая плотность сорняков нижнего яруса колебалась от 6–8 шт/м², при уровне 10% потерь – до 8–12 шт/м². Для сорных растений среднего и верхнего яруса при уровне потерь урожая 5% плотность сорных растений составил: для бодяка щетинистого в посевах ярового ячменя – 2 шт/м² и в посевах озимой пшеницы – 4 шт/м²; хвоща полевого *Equisetum arvense* – 4 и 5 шт/м², осота полевого – 2 и 4 шт/м², вьюнка полевого *Convolvulus arvensis* – 5 и 5 шт/м², соответственно.

Ключевые слова: озимая пшеница, яровой ячмень, многолетние сорняки, экономический порог вредоносности, урожайность

Поступила в редакцию: 26.04.2020

Принята к печати: 07.09.2020

Введение

Работами большого числа гербологов при анализе состава агрофитоценозов в разных регионах страны отмечена закономерность увеличения обилия злостных корневищных и корнеотпрысковых сорных растений. К основным причинам массового распространения сорных растений этих групп авторы относят: их исключительную биологическую пластичность, повсеместное проведение поверхностной основной обработки почвы, не соблюдение научно обоснованного чередования культур в севооборотах, большое количество залежей (Шпанев и др., 2007; Палкина, 2011; Никольский и др., 2013).

Ториков и др. (2015) отмечают высокое содержание макро и микроэлементов в корневищных и корнеотпрысковых сорных растениях: хвоще полевом *Equisetum arvense* L., пырее ползучем *Elytrigia repens* (L.) Nevski, вьюнке полевом *Convolvulus arvensis* L., бодяке щетинистом *Cirsium setosum* (Willd.) Besser, осоте полевом *Sonchus arvensis* L.

Биологические особенности многолетних корневищных сорных растений, способствующие их высокой вредоносности, отмечались в самых ранних работах, посвященных защите растений. Пырей ползучий – сорный вид с симподиальным корневищем, которое растет в длину бесчисленными отростками в различных направлениях. Этот вид может образовывать сотни километров побегов корневищ на 1 га пашни, а также больше 250 млн почек возобновления. Во время обработки почвы измельчение

корневищ этого вида стимулирует побегообразование. Хвощ полевой – сорное растение с симподиальным корневищем, имеющим два типа вегетативного размножения. Корневища вырастают в земле в длину одним верхушечным концом и занимают несколько ярусов на глубине более 1 м. Жизнеспособность хвоща полевого при повреждении весьма высокая. Корневища отрастают с глубины до 30 см (Котт, 1961; Бешанов и др., 1983; Смирнов, 1989).

Интенсивная обработка почвы привела к чрезвычайной устойчивости корневищных сорных растений в связи с отсутствием стадийного старения, способности вырастать из малых побегов с адвентивными почками (Tørgesen et al., 2010; Campiglia et al., 2018).

Столь же вредоносными являются и корнеотпрысковые сорные виды. Около одного растения разрастаются куртины площадью 5–10 м², которые впоследствии образуют сплошной засоренный массив. Бодяк щетинистый может иметь до 100 млн почек на 1 га, осот полевой – до 180 млн почек, вьюнок полевой – до 120 млн почек. У бодяка щетинистого глубина залегания горизонтальных корней может достигать до 3 м (хотя основная масса располагается на глубине 35 см), у вьюнка полевого – до 2–3 м. Значительная масса горизонтальных корней осота полевого сконцентрирована на глубине 6–12 см, но вегетативное отрастание корневой системы отмечали на глубине до 1.7 м. (Котт, 1971; Бешанов и др., 1983). Механическое повреждение корней корнеотпрысковых сорных растений

стимулирует еще более интенсивное побегообразование (Graglia E et al., 2006; Мрясова, Галиахметов, 2011). Интенсивная обработка почвы в борьбе с многолетними корневищными и корнеотпрысковыми сорняками способствует потерям азота из почвы, увеличивает выбросы CO_2 из-за потребления топлива и увеличивает энергозатраты на производство урожая (Koga et al., 2003; Tzilivakis et al., 2005; Bergkvist et al., 2017). Все это приводит к необходимости применения химических мер борьбы с ними. Вместе с тем борьба с сорняками приобретает новое направление, базирующееся на контроле их численности

и использовании химических методов с минимальными последствиями для окружающей среды. (Kim et al., 2017; Pannacci E et al., 2017). Одним из необходимых условий эффективности защитных мероприятий является оценка критической плотности популяции сорняков, при которой происходит достоверное снижение урожайности культур.

Целью работы явилось изучение вредоносности злостных корневищных и корнеотпрысковых сорных растений в посевах озимой пшеницы и ярового ячменя. и определение экономических порогов вредоносности отдельных видов сорных растений.

Материалы и методы

Опыт был проведен в условиях лесостепи юга Нечерноземной зоны (республика Мордовия) на производственных посевах ячменя (сорт *Зазерский 85*) и озимой пшеницы (сорт *Московская 39*) в 2005–2008 гг. Почва исследуемых участков – чернозем оподзоленный, тяжело-суглинистый: гумус – 7% (ГОСТ 26213-91), K_2O – 250 мг/кг, P_2O_5 – 150 мг/кг (ГОСТ 26207-91), pH_{KCl} – 6.0 (ГОСТ 26483-85). На опытных участках были выделены стационарные площадки ($S = 1 \text{ м}^2$): 1) контроль (без сорняков); 2) с растениями: бодяка щетинистого, вьюнка полевого, осота полевого, хвоща полевого и пырея ползучего. Моделирование засоренности отдельными видами на площадки достигали при помощи ручной прополки. Обилие сорных растений в нижнем (припочвенном) ярусе: 1) 1–5, 2) 6–10, 3) 11–16, 4) 16–20 шт./ м^2 ; в среднем и верхнем ярусах: 1) 1–3, 2) 4–6, 3) 7–10, 4) более 10 шт./ м^2 . Для всех вариантов обилия сорных растений с учетом яруса устанавливалось по 10 учетных площадок, каждую из них считали за повторность. Ярусы выделяли, исходя из высоты сорных растений по отношению к растениям культуры, по методу А. И. Мальцева. Средний и верхний ярус – высота сорных

растения выше $\frac{1}{2}$ высоты культурных растений, нижний и припочвенный ярус – ниже $\frac{1}{2}$ высоты культурных растений (Туликов, 1982).

В опыте определяли содержание N, P_2O_5 , и K_2O в надземной и корневой части сорных и культурных растений. Общий азот в растительных образцах определяли по Кьельдалю (ГОСТ 13496.4-93), содержание P_2O_5 – колориметрическим методом Дениже в модификации Левицкого, K_2O – на пламенном фотометре с предварительным мокрым озолением растительного материала по Гинзбург (Практикум по агрохимии, 2001). Вынос элементов питания устанавливали с пересчетом на 1 м^2 .

Уравнение регрессии зависимости урожайности озимой пшеницы и ячменя от плотности популяции сорняков проводили с помощью уравнения обратной логарифмической кривой:

$$Y = \frac{1}{1+a \cdot e^{bx}},$$

где Y – урожайность зерна, т/га; x – количество сорняков шт./ м^2 ; a, b – коэффициенты уравнения регрессии. (Захаренко, 2000).

Результаты

Определение содержания элементов питания в растениях озимой пшеницы, ярового ячменя и наиболее вредоносных корневищных и корнеотпрысковых сорных растениях показало, что последние не уступали, а часто превосходили виды культурных растений. Значительное накопление калия (K_2O) было выявлено в надземной и корневой массе сорных растений. По накоплению K_2O бодяка щетинистый и осот полевой преобладали над культурными растениями в два раза. Количество азота в корнях и корневищах анализируемых сорных растений было в 1.5–2 раза выше аналогичного показателя у ярового ячменя и озимой пшеницы. При сравнении сорных растений между собой наибольшее накопление азота отмечено в надземной массе осота полевого (32.7 г/кг) и вьюнка полевого (28.1 г/кг); в корнях – у вьюнка полевого (30.2 г/кг) и пырея ползучего (27.4 г/кг). Содержание фосфора было примерно одинаковым по всем изучаемым видам. Наибольшее накопление K_2O выявлено в надземных органах у бодяка щетинистого (47.2 г/кг) и осота полевого (43.4 г/кг), в корневой части – у пырея ползучего (35.2 г/кг).

Вынос элементов питания сорными растениями обусловливался интенсивностью их роста и развития в растительном сообществе. Растения припочвенного и нижнего ярусов выносили незначительное количество элементов питания. Исключение составлял лишь пырей полевой,

устойчиво развивавшийся в условиях недостатка солнечного света. Вынос азота пыреем был в пределах 15–19% от выноса культурными растениями, фосфора – 4–7%, калия – 23–37%. Сорные растения, интенсивно произрастающие в среднем и верхнем ярусах, способствовали большому выносу элементов питания. При обилии > 10 шт./ м^2 растения бодяка щетинистого отчуждали азота 25–32%, фосфора – 6–10%, калия – 55–89% от выноса ячменя и озимой пшеницы соответственно на делянках без сорняков. При таком же обилии вьюнка полевого данное соотношение составляло 26–35% (N), 5–8% (P_2O_5) и 22–36% (K_2O), осота полевого – 33–43% (N), 6–12% (P_2O_5) и 50–80% (K_2O). Значительный вынос элементов питания сорными растениями является не только одним из важных показателей их вредоносности, но и существенно снижает плодородие почвы. Надземная масса многолетних сорных видов ежегодно отчуждается с соломой при уборке. Глубоко проникающая корневая система корнеотпрысковых сорных растений способствует перемещению элементов минерального питания в нижние слои почвы, недоступные для корневых систем культурных растений.

Как правило, при оценке вредоносности сорных растений и определения их ЭПВ учитывается численность сорных растений и их развитие в агрофитоценозе (Захаренко, 2000). Наши исследования выявили, что уровень

вредоносности сорных растений нижнего яруса обуславливался периодом появления их в агрофитоценозе. Так, при появлении их во время завершения роста основной культуры, значительного вреда они не приносили, даже при значительном обилии. Вредоносность сорных

растений была значительно выше при синхронном их развитии с культурой, а также при прекращении роста озимой пшеницы и ярового ячменя из-за конкурентного влияния или неблагоприятных условий среды (табл. 1).

Таблица 1. Урожайность зерновых культур в зависимости от ярусности и количества корневищных и корнеотпрысковых сорняков, т/га (в среднем за 2005–2008 гг.)

Table 1. Productivity of grain crops depending on the longline and the number of rhizome and root spawn weeds, t / ha (average for 2005–2008)

Количество сорняков, шт/м ²		Яровой ячмень					Озимая пшеница				
		Бодяк щетинистый	Вьюнок полевой	Хвощ полевой	Осот полевой	Пырей ползучий	Бодяк щетинистый	Вьюнок полевой	Хвощ полевой	Осот полевой	Пырей ползучий
Припочвенный и нижний ярус агрофитоценоза	1–5	2.17	2.22	2.12	2.20	2.13	3.30	3.30	3.28	3.25	3.23
	6–10	2.10	2.16	2.00	2.12	2.04	3.23	3.25	3.10	3.24	3.02
	11–16	1.99	2.06	1.92	2.00	1.91	3.13	3.20	2.93	3.15	2.86
	16–20	1.86	1.99	1.76	1.82	1.54	2.90	3.09	2.80	2.97	2.53
	<i>HCP</i> ₀₅	0.07	0.07	0.06	0.07	0.08	0.12	0.12	0.11	0.12	0.12
Средний и верхний ярус агрофитоценоза	1–3	2.12	2.10	2.16	2.10	–	3.14	3.19	3.27	3.22	–
	4–6	1.84	1.93	2.00	1.97	–	2.88	2.98	3.13	2.94	–
	7–10	1.55	1.81	1.85	1.69	–	2.51	2.69	3.00	2.81	–
	>10	1.28	1.78	1.53	1.43	–	2.19	2.49	2.78	2.41	–
	<i>HCP</i> ₀₅	0.06	0.08	0.07	0.08	–	0.13	0.12	0.10	0.11	–
Контроль(без сорняков)		2.24					3.32				

Существенные потери урожая ярового ячменя (0.14 т/га) от растений бодяка щетинистого, разрастающегося в припочвенном и нижнем ярусе, регистрировались при его количестве 6–10 шт/м²; от вьюнка полевого – при 11–16 шт/м² (0.18 т/га). В нижнем ярусе больший вред для ячменя наносили хвощ полевой и пырей ползучий. Здесь снижение урожая составляло 0.12 и 0.11 т/га, соответственно (при 1–5 шт/м²).

Озимая пшеница оказалась более конкурентоспособной по отношению к сорным растениям. Значительные потери урожая культуры (0.39 т/га и 0.46 т/га) фиксировали при численности хвоща полевого и пырея ползучего 11–16 шт/м² в припочвенном и нижнем ярусе.

Наибольшую вредоносность изучаемые сорные растения оказывали, разрастаясь в среднем и верхнем ярусе агрофитоценоза. При количестве бодяка щетинистого 1–3 шт/м² уменьшение урожайности ячменя было 5%,

пшеницы – 4%. На площадках при плотности популяции вьюнка полевого 1–3 т/м² снижение урожайности пшеницы составляло 4%, ячменя – 6%. Когда количество данного сорного вида возрастало до 4–6 шт/м² урожайность озимой пшеницы снижалась на 10%, ярового ячменя – на 14%. При количестве вьюнка полевого более 10 шт/м² фиксировалось полегание пшеницы, что соответственно приводило к максимальному снижению урожайности, в среднем за годы исследований оно составляло порядка 26%. При количестве 1–3 шт/м² хвоща полевого в среднем ярусе недобор урожайности ярового ячменя был 5%, озимой пшеницы – 2%. На площадках, где численность этого сорного растения доходила до 7 шт/м², потери урожайности ячменя составляли 18%, пшеницы – 9%. При численности хвоща более 10 шт/м² снижение данного показателя составляло 22% у ярового ячменя и 20% у озимой пшеницы (табл. 2, рис. 1–2).

Таблица 2. Уравнения регрессии расчета урожайности зерновых культур (Y, т/га) в зависимости от количества сорняков (x, шт/м²)

Table 2. Regression equations for calculating the yield of grain crops (Y, t / ha) depending on the number of weeds (x, weeds/m²)

Сорное растение	Яровой ячмень		Озимая пшеница	
	Уравнение регрессии	R ²	Уравнение регрессии	R ²
припочвенный и нижний ярус				
Бодяк щетинистый	$Y = 1 / 1 + 2.24e^{-0.02x}$	0.52**	$Y = 1 / 1 + 3.26e^{-0.04x}$	0.55**
Вьюнок полевой	$Y = 1 / 1 + 2.29e^{-0.03x}$	0.48**	$Y = 1 / 1 + 3.26e^{-0.04x}$	0.52**
Хвощ полевой	$Y = 1 / 1 + 2.22e^{-0.02x}$	0.47**	$Y = 1 / 1 + 3.28e^{-0.04x}$	0.52**
Осот полевой	$Y = 1 / 1 + 2.23e^{-0.02x}$	0.47**	$Y = 1 / 1 + 3.26e^{-0.04x}$	0.50**
Пырей ползучий	$Y = 1 / 1 + 2.23e^{-0.02x}$	0.43*	$Y = 1 / 1 + 3.23e^{-0.04x}$	0.46*
средний и верхний ярус				
Бодяк щетинистый	$Y = 1 / 1 + 2.25e^{-0.06x}$	0.82**	$Y = 1 / 1 + 3.25e^{-0.09x}$	0.65**
Вьюнок полевой	$Y = 1 / 1 + 2.25e^{-0.03x}$	0.52**	$Y = 1 / 1 + 3.23e^{-0.06x}$	0.53**
Хвощ полевой	$Y = 1 / 1 + 2.19e^{-0.04x}$	0.48**	$Y = 1 / 1 + 3.38e^{-0.06x}$	0.54**
Осот полевой	$Y = 1 / 1 + 2.20e^{-0.04x}$	0.48**	$Y = 1 / 1 + 3.23e^{-0.06x}$	0.51**

* – $p > 0.05$; ** – $p < 0.05$

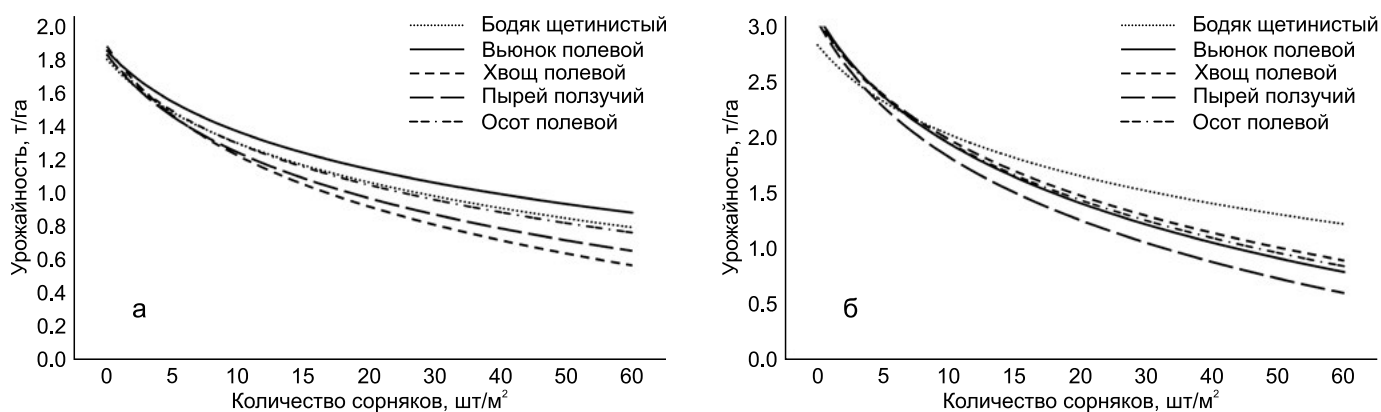


Рисунок 1. График экспоненциального сглаживания уравнения регрессии урожайности ярового ячменя (а) и озимой пшеницы (б) от количества корневищных и корнеотпрысковых сорняков, произрастающих в нижнем ярусе

Figure 1. Graph of exponential smoothing of the regression equation for the yield of spring barley (a) and winter wheat (b) versus the number of rhizome and root spawn weeds growing in the lower tier

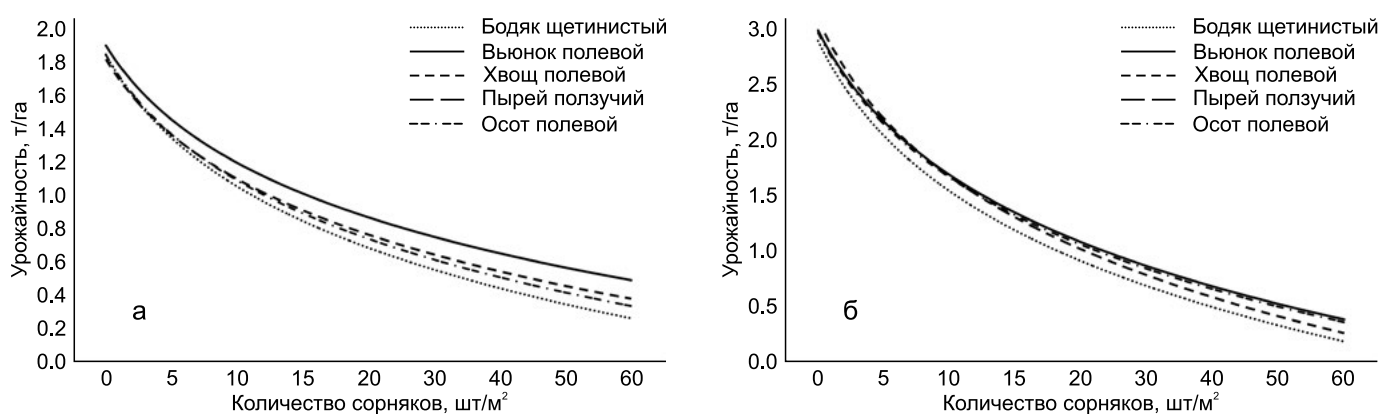


Рисунок 2. График экспоненциального сглаживания уравнения регрессии урожайности ярового ячменя (а) и озимой пшеницы (б) от количества корневищных и корнеотпрысковых сорняков, произрастающих в среднем и верхнем ярусе

Figure 2. Graph of exponential smoothing of the regression equation for the yield of spring barley (a) and winter wheat (b) versus the number of rhizome and root spawn weeds growing in the middle and upper tier

Регрессионный анализ показал, что между урожайностью и количеством сорных растений существует достоверная средняя отрицательная связь. Развиваясь в нижнем ярусе, они оказывают меньшее влияние на снижение продуктивности озимой пшеницы и ячменя.

Потери урожайности на 5% уровне отмечались при засоренности в припочвенном и нижнем ярусах: для хвоща полевого в посевах ярового ячменя при плотности сорняков 6 шт/м² и в посевах озимой пшеницы – 7 шт/м²; вьюнка полевого – 8 и 12 шт/м²; бодяка щетинистого – 7 и 8 шт/м²; осота полевого – 8 и 10 шт/м², соответственно.

Снижение урожайности на уровне 5 и 10% для сорных растений нижнего яруса на посевах ячменя у пырея ползучего составляло при плотности 5 и 9 шт/м². Для посевов пшеницы такие показатели отмечены при количестве сорных растений 6 и 10 шт/м² соответственно.

Для сорных растений среднего и верхнего яруса 5% уровень потерь урожайности: для бодяка щетинистого в посевах ярового ячменя отмечался при плотности сорняков 2 шт/м² и в посевах озимой пшеницы – 4 шт/м²; хвоща полевого – 4 и 5 шт/м², осота полевого – 2 и 4 шт/м², вьюнка полевого – 5 и 5 шт/м² соответственно.

Обсуждение

Проведенный анализ сорного компонента посевов основных зерновых культур Республики Мордовия показал существенную вредоносность корневищных и корнеотпрысковых сорных видов. Многолетние сорные растения характеризуются высоким накоплением элементов минерального питания, как в надземной части, так и в корневой системе. Общий вынос элементов питания отдельными сорными растениями достигает 10–15% при их

произрастании в нижнем ярусе и 30–40% при нахождении их в среднем и верхнем ярусе. Возникающая острая конкуренция за ограниченные ресурсы минерального питания приводит к существенному снижению урожайности зерновых культур. Статистический анализ влияния уровня засоренности посевов на урожайность показывает устойчивую отрицательную связь этих показателей.

Библиографический список (References)

Бешанов АВ, Шилов ГЕ, Выдрин ОС (1983) Борьба с сорняками на полях Нечерноземья. Л.: Колос. 166 с.

ГОСТ 26213-91. Почвы. Методы определения органического вещества (1992) М.: Изд-во стандартов

- ГОСТ 26483-85. Приготовление солевой вытяжки и определение ее pH по методу ЦИНАО. (1995) М. : Изд-во стандартов.
- ГОСТ 26207-91. Почвы. Определение подвижных форм фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО (1992) М. : Изд-во стандартов.
- ГОСТ 13496.4-93. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. (2011) – М. : Стандартинформ.
- Жуков ВН, Зубков АФ (2007) Концепция саморегуляции биоценологических процессов в агроэкосистеме. *Вестник защиты растений* 3:3–13
- Захаренко АВ (2000) Теоретические основы управления сорным компонентом агрофитоценоза в системах земледелия. М.: Изд-во МСХА. 468 с.
- Котт СА (1961) Сорные растения и меры борьбы с ними. М.: Сельхозгиз. 366 с.
- Минеев ВГ, Сычев ВГ, Амелянчик ОА и др (2001) Практикум по агрохимии. М. : Изд-во МГУ. 689 с.
- Мрясова ЛМ, Галиахметов РН (2011). Динамика сорных растений в агрофитоценозе яровой пшеницы. *Защита и карантин растений* 7:30–32
- Никольский АН, Бочкарев ДВ, Баторшин РФ (2013) Состав сорной флоры элементов агроландшафта. *Вестник Саратовского государственного университета им. Н.И. Вавилова* 9 :25–30.
- Палкина ТА (2011) Флористический состав сорного компонента агроценозов на территории Рязанской области. *Известия ТСХА* 4:44–55
- Смирнов БМ (1989) Борьба с сорняками в Поволжье. Саратов: Приволж. кн. изд-во. 178 с.
- Ториков ВЕ, Мельникова ОВ, Ториков ВВ (2015). Минеральный состав надземной массы сорных растений. *Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии* 4: 10–14
- Шпанев АМ, Голубев СВ, Зубков АФ (2007) Концепция саморегуляции биоценологических процессов в агроэкосистеме. *Вестник защиты растений* 4: 4–19
- Askegaard M, Olesen JE, Rasmussen I, Kristensen K (2011) Nitrate leaching from organic arable crop rotations is mostly determined by autumn field management. *Agric Ecosyst Environ* 142: 149–160
- Bergkvist G, Ringselle B, Magnuski E, Mangerud K, Brandsæter LO (2017). Control of *Elymus repens* by rhizome fragmentation and repeated mowing in a newly established white clover sward. *Weed Res* 57: 172–181
- Campiglia E, Radicetti E, Mancinelli R (2018). Floristic composition and species diversity of weed community after 10 years of different cropping systems and soil tillage in a Mediterranean environment. *Weed Res* 58: 273–283.
- Graglia E, Melander B, Jensen RK (2006), Mechanical and cultural strategies to control *Cirsium arvense* in organic arable cropping systems. *Weed Res* 46: 304–312
- Kim KH, Kabir E, Jahan SA (2017) Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Sci Total Environ* 575: 525–535.
- Koga N, Tsuruta H, Tsuji H, Nakano H (2003) Fuel consumption-derived CO₂ emissions under conventional and reduced tillage cropping systems in northern Japan. *Agric Ecosyst Environ* 99: 213–219
- Pannacci E, Lattanzi B, Tei F (2017) Non-chemical weed management strategies in minor crops: a review. *Crop Prot* 96, 44–58
- Tørresen KS, Fykse H, Rafoss T (2010) Autumn growth of *Elytrigia repens*, *Cirsium arvense* and *Sonchus arvensis* at high latitudes in an outdoor pot experiment. *Weed Res* 50: 353–363

Translation of Russian References

- Beshanov AV, Shilov GE, Vydrina OS (1983) *Borba s sornyakami na polyakh Nechernozemya* [Weed control in the fields of Non-Black Earth]. L.: Kolos. 166 p. (In Russian)
- GOST 26213-91 [Soils. Methods for determination of organic matter] (1995) М.: Izdatelstvo standartov (In Russian)
- GOST 26483-85 [Soils. Preparation of salt extract and determination of its pH by CINAO method] (1992) М.: Izdatelstvo standartov (In Russian)
- GOST 26207-91 [Soils. Determination of mobile compounds of phosphorus and potassium by Kirsanov method modified by CINAO] (1995) М.: Izdatelstvo standartov (In Russian)
- GOST 13496.4-93 [Fodder, mixed fodder and animal feed raw stuff. Methods of nitrogen and crude protein determination] (2011) М.: Standartinform (In Russian)
- Zhukov VN, Zubkov AF (2007) [A concept of autoregulation of biocenotic processes in agroecosystem]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3:3–13 (In Russian)
- Zakharenko AV (2000) *Teoreticheskie osnovy upravleniya sornym komponentom agrofitocenoza v sistemakh zemledeliya* [Theoretical foundations of managing the weed component of agrophytocenosis in farming systems] М.: Izdatelstvo Timiryazevskoy selskokhozyaystvennoy akademii. 468 p. (In Russian)
- Kott SA (1961) *Sornye rasteniya i mery borby s nimi* [Weeds and control measures]. М.: Selkhozgiz. 366 p. (In Russian)
- Mineev VG, Sychev VG, Ameliyanchik OA at all (2001) *Praktikum po agrokhimii* [Workshop on agricultural chemistry] М. : Izdatelstvo MGU. 689 p. (In Russian)
- Luneva NN, Mysnik EN (2014) [Ecological-geographical approach in predicting the species composition of weeds]. *Zashchita i karantin rasteniy* 8:20–23 (In Russian).
- Mryasova LM, Galiahmetov RN (2011). [Weed plants dynamics in the spring wheat agrophytocenosis]. *Zashchita i karantin rasteniy* 7:30–32 (In Russian)
- Nikolskiy AN, Bochkarev DV, Batorshin RF (2013) [The composition of weed flora of agrolandscape elements]. *Vestnik Saratovskogo gosagrouniversiteta im. N.I. Vavilova* 9:25–30.
- Palkina TA (2011) [The floral composition of the weed component of agrocenoses in the Ryazan region]. *Izvestiya Timiryazevskoy selskokozyaystvennoy akademii* 4:44–55 (In Russian)
- Torikov VE, Melnikova OV, Torikov VV (2015) [The mineral composition of the aerial mass of weeds]. *Vestnik Bryanskoy gosudarstvennoy selskokozyaystvennoy akademii*, 4:10–14 (In Russian)
- Smirnov BM (1989) *Borba s sornyakami v Povolzhye* [Weed control in the Volga region]. Saratov: Privolzhskoe kniznoe izdatelstvo. 178 p. (In Russian)
- Shpanev AM, Golubev SV, Zubkov AF (2007) [A concept of autoregulation of biocenotic processes in agroecosystem]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4:4–19 (In Russian)

THE HARMFULNESS OF RHIZOME AND CREEPING WEEDS IN CROPS OF WINTER WHEAT AND SPRING BARLEY IN THE FOREST-STEPPE SOUTH OF THE NON-CHERNOZEM ZONE

A.N. Nikolskiy, D.V. Bochkarev, T.F. Devyatkina, Y.N. Nedajborshch, V.D. Bochkarev

National Research Mordovia State University, Saransk

*corresponding author; e-mail: BochkarevDV@yandex.ru

One of the reasons for the decrease in the yield of winter wheat and spring barley is the significant distribution in the crops of rhizome and root spawn weeds. The high competitiveness of weeds is largely determined by the features of their mineral nutrition. The accumulation of K_2O in the *Cirsium setosum* and *Sonchus arvensis* exceeded the accumulation in cultivated plants twice. The nitrogen content in the roots and rhizomes of weeds was 1.5–2 times higher than the content of cultivated plants. The total removal of nutrients by weeds is influenced by their tier. Weed plants, intensively growing in the middle and upper tiers, contributed to a greater removal of nutrients from the soil. The removal of nitrogen was 14–43% of the removal of cultivated plants, phosphorus – 4–12%, potassium – up to 80% of the removal of culture. A significant decrease (> 10%) in yield is observed at a population density of 5–10 weeds/m² in the lower tier. Winter wheat was more stable. A reduction of 10% with 11–15 weeds/m² of the lower tier. A decrease in plant productivity by 10–15% with a population density of 5–10 weeds/m². The calculation of the economic threshold level (ETL) at the level of 5% yield loss for the lower tier ranged from 6–8 weeds/m², at the level of 10% loss to 8–12 weeds/m². ETL (5%) for weeds of medium and high level for *Cirsium setosum* in crops of spring barley – 2 weeds/m² and in winter wheat crops – 4 weeds/m²; *Equisetum arvense* – 4 and 5 weeds/m², *Sonchus arvensis* – 2 and 4 weeds/m², *Convolvulus arvensis* – 5 and 5 weeds/m², respectively

Keywords: winter wheat, spring barley, perennial weeds, economic threshold level, productivity

Received: 26.04.2020

Accepted: 07.09.2020

УСТОЙЧИВОСТЬ ОБРАЗЦОВ МЕСТНОГО ОВСА ИЗ ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ

Е.Е. Радченко*, М.А. Чумаков, И.Г. Лоскутов

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

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

Обыкновенная злаковая тля *Schizaphis graminum* – опасный вредитель овса и других зерновых культур на юге России. Эффективный и экологически безопасный способ борьбы с насекомым – возделывание устойчивых сортов. Характерное для фитофага дифференциальное взаимодействие с растением-хозяином обуславливает необходимость поиска новых доноров устойчивости. Оценили устойчивость 276 образцов местного овса из стран Центральной Азии (Казахстана, Узбекистана, Кыргызстана и Туркменистана) к краснодарской популяции насекомого и выделенным из нее клонам. Выявили 2 устойчивых к *Sch. graminum* образца из Казахстана (к-6945 и к-8691). Гетерогенны по изученному признаку 133 образца из Казахстана, среди которых у 77 форм выявлены растения с высокой и умеренной устойчивостью, а 56 образцов содержали растения, характеризующиеся лишь умеренной устойчивостью. Все образцы из Узбекистана и Туркменистана восприимчивы к *Sch. graminum*. Гетерогенен по устойчивости образец из Кыргызстана к-9993. Широкое варьирование степени поврежденности большинства форм овса обусловлено, прежде всего, неоднородностью популяции тли по признаку вирулентности. Оценка поврежденности 15 выделенных образцов из Казахстана тест-клонами *Sch. graminum* показала, что аллели генов устойчивости к обыкновенной злаковой тле у этих форм отличаются от идентифицированных ранее генов *Grb1* и *Grb3*.

Ключевые слова: овес, *Schizaphis graminum*, гены устойчивости, селекция растений

Поступила в редакцию: 30.06.2020

Принята к печати: 28.08.2020

Введение

В южных регионах России значительный ущерб зерновым культурам причиняет обыкновенная злаковая тля *Schizaphis graminum* Rondani. Наиболее ощутимый

вред озимым и яровым посевам *Sch. graminum* наносит при миграции на поля в фазу всходов (Pike, Schaffner, 1985). Устойчивость растений способна существенно

лимитировать вредоносность фитофага. Селекция и возделывание устойчивых сортов – радикальный и, вместе с тем, наиболее дешевый и экологически безопасный способ ограничения наносимого ущерба. Для *Sch. graminum* характерно дифференциальное взаимодействие с растениями-хозяевами, что определяет необходимость постоянного поиска новых доноров устойчивости.

Литературные данные об устойчивости овса к обыкновенной злаковой тле немногочисленны. Устойчивость образца Russian 77 (CI 2898) к биотипу A *Sch. graminum* контролируется доминантным геном (Gardenhire, 1964), который впоследствии был обозначен символом *Tg1*. R.L. Wilson с соавторами (Wilson et al., 1978) выявили слабо повреждаемые насекомым линии овса CI 1579 (Южная Африка), CI 1580 (Шотландия), CI 4888 (Италия) и PI 186270 (Аргентина). Изучение наследования устойчивости трех образцов к двум биотипам *Sch. graminum* показало, что линии PI 186270 и CI 1580 имеют по одному доминантному гену (*Grb1* и *Grb2* соответственно), которые контролируют устойчивость к биотипу C; линия CI 4888 защищена доминантным геном устойчивости *Grb3* к биотипу тли В. Показано также возможное присутствие

малых генов устойчивости к обоим биотипам у всех трех образцов. Цитоплазматическая устойчивость растений к фитофагу не выявлена (Boozaya-Angoon et al., 1981). Ген устойчивости *Grb2* проявляется также против биотипов E (Starks et al., 1983), I (Harvey et al., 1991) и, лишь отчасти, F – H (Kindler, Spomer, 1986; Puterka et al., 1988).

Результаты наших опытов показали, что местные формы овса являются довольно богатым источником пополнения банка эффективных генов устойчивости к насекомому. Ранее изучили 371 образец овса из стран Азии и Дальнего Востока РФ и выделили 95 гетерогенных по устойчивости к *Sch. graminum* форм. Отобрали 7 гомозиготных устойчивых линий и показали, что эти формы защищены разными аллелями генов устойчивости, которые отличаются также от гена *Grb3* (Radchenko et al., 2018). В результате исследования 191 образца овса из Армении, Азербайджана, Грузии и Дагестана выявили образец к-4308 с высокой устойчивостью к обыкновенной злаковой тле и 38 гетерогенных форм (Радченко и др., 2019).

Цель настоящей работы – изучить наследственное разнообразие местного овса из стран Центральной Азии по устойчивости к *Sch. graminum*.

Материалы и методы

В лабораторных экспериментах оценили устойчивость к *Sch. graminum* 276 образцов местного овса из стран Центральной Азии. Подавляющее большинство изученных форм (260 образцов) поступило в коллекцию Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) из Казахстана, 8 – из Узбекистана, 6 – Кыргызстана и 2 – из Туркменистана. Изучили также образцы с идентифицированными ранее генами устойчивости *Grb1* (к-13903, PI 186270, Аргентина), *Grb2* (к-13901, CI 1580, Шотландия) и *Grb3* (к-13902, CI 4888, Италия).

Работу проводили с января по май 2020 г. в световом зале со светоустановками, оборудованными люминесцентными лампами, где поддерживалась температура воздуха 20–25 °С. В опытах использовали краснодарскую (Кубанская опытная станция – филиал ВИР, Гулькевичский район) популяцию *Sch. graminum* и выделенные из нее клоны. Насекомых разводили на проростках сорта овса *Вогтус*, выращенных в чашках Петри (без крышек) на смоченной водой вате. Для получения клона одну самку изолировали на сорте *Вогтус* с помощью стекла от фонаря «летучая мышь», верхнюю часть которого затягивали бязью. Садки с клонами насекомого размещали на светоустановках. Дальнейшее поддержание клонов проводили путем пересадки стряхиванием тлей в аналогичные садки.

В месте питания обыкновенной злаковой тли растительные ткани некротизируются, что позволяет тестировать поврежденность растений. Для проведения скрининга в кюветы с почвой высевали по 10 рядков исследуемых

образцов и 2 рядка неустойчивого контроля (сорт *Вогтус*). Ювенильные растения заселяли разновозрастными тлями (4–5 особей на растение) и при гибели контроля оценивали устойчивость по шкале от 0 (нет повреждений) до 10. Растения с баллами 1–4 (повреждено до 30% листовой поверхности) относили к классу устойчивых, 9–10 – восприимчивых (Радченко, 2008). Выделившиеся по устойчивости образцы тестировали повторно.

Клоны *Sch. graminum* с различными фенотипами вирулентности (“тест-клоны”) использовали для идентификации генов устойчивости у выделенных форм овса. Метод тест-клонов позволяет исключить у исследуемого образца гены устойчивости, эффективные только против части популяции насекомого. Если хотя бы один клон, авирулентный к тестеру данного гена устойчивости, повреждает изучаемый сорт, это означает, что сорт не имеет функционального аллеля данного гена. Опытные образцы, тестеры *Grb*-генов и восприимчивый контроль высевали в сосуды с почвой в круговом порядке и закрывали изоляторами. В фазе 2-х листьев всходы заселяли тлями одного клона и при гибели контроля оценивали поврежденность растений по упомянутой выше шкале. В силу гетерогенности испытываемого материала оценивали устойчивость 10 растений каждого образца. Кроме того, изучили устойчивость пяти умеренно устойчивых к фитофагу образцов (варьирование поврежденности растений 4–10 баллов) к произвольно выбранным 20 клонам, выделенным из краснодарской популяции *Sch. graminum*.

Результаты

В результате скрининга выделили 2 образца овса (к-6945 и к-8691), поврежденность которых не превышала четырех баллов (табл. 1). Гетерогенны по устойчивости к тле 133 образца из Казахстана, среди которых у 77 форм выявлены растения с высокой (1–4 балла) и умеренной (5–8 баллов) устойчивостью, а у 56 образцов проявление устойчивого компонента варьировало в пределах 5–8 баллов (повреждено от 31 до 70% листовой поверхности).

В ряде случаев растения были отчетливо дифференцированы на 2 фенотипических класса (табл. 1), однако преобладали формы, характеризующиеся широким спектром степени поврежденности растений.

Все экспериментальные образцы из Узбекистана и Туркменистана восприимчивы к *Sch. graminum*. Гетероген по устойчивости образец из Кыргызстана к-9993,

Таблица 1. Образцы местного овса из Казахстана, выделившиеся по устойчивости к обыкновенной злаковой тле

Номер по каталогу ВИР	Разновидность	Оценено растений	Распределение растений по баллам устойчивости, %		
			1–4	5–8	9, 10
4116	<i>mutica, aurea</i>	19	79.0	10.5	10.5
6945	<i>mutica, aristata</i>	28	100.0	–	–
7875	<i>aurea, mutica</i>	23	95.7	–	4.3
7888	<i>aurea</i>	25	92.0	–	8.0
8549	<i>mutica, aristata, krausei</i>	17	94.1	–	5.9
8556	<i>mutica, aurea, krausei</i>	23	95.7	–	4.3
8691	<i>mutica, aurea, krausei</i>	23	100.0	–	–
8800	<i>mutica, aurea</i>	24	79.2	–	20.8
8819	<i>aurea, mutica</i>	14	85.8	7.1	7.1
8827	<i>mutica</i>	24	91.7	–	8.3
8947	<i>mutica, aurea</i>	26	96.2	–	3.8
8949	<i>mutica, aurea</i>	23	87.0	–	13.0
4097	<i>aurea, krausei, mutica</i>	23	43.5	26.1	30.4
4103	<i>mutica, aurea, krausei</i>	29	13.8	37.9	48.3
9058	<i>mutica, aurea</i>	26	19.2	23.1	57.7
11840	Вотрус (контроль)	165	–	–	100

поврежденность устойчивого компонента которого варьировала от 4 до 8 баллов.

Значительная изменчивость признака может быть обусловлена проявлением генов с низкой экспрессивностью и/или присутствием в популяции фитофага клонов с различной вирулентностью к изученным формам. Оценили устойчивость упомянутых в табл. 1 образцов к шести клонам *Sch. graminum*, различающимся по вирулентности к образцам овса, имеющим гены устойчивости *Grb1* и *Grb3*. Клоны, вирулентные к линии CI 1580, которая защищена геном *Grb2*, среди имевшихся в нашем распоряжении 140 клонов *Sch. graminum* выделить не удалось.

В подавляющем большинстве случаев образцы местного овса из Казахстана устойчивы к тест-клонам *Sch. graminum* (устойчивость растений 1–3 балла). Сильно повреждался образец к-8819 при взаимодействии с клоном 3 (табл. 2). При заселении тлями образцов с широким спектром варьирования степени поврежденности растений (к-4097, к-4103, к-9058) совместимое взаимодействие (сильное повреждение растений) отмечено в 9 вариантах из 18. Питание авирулентных клонов обуславливало поврежденность растений на уровне 1–3 балла, умеренную устойчивость (5–8 баллов) не наблюдали. В силу значительной гетерогенности по устойчивости к тле этих форм (табл. 1), в ряде случаев отмечали сильную (9–10 баллов) поврежденность авирулентными клонами *Sch. graminum* части оценивавшихся растений.

При заселении экспериментального материала клоном 6, вирулентным к тестерам известных генов устойчивости *Grb1* и *Grb3*, 12 образцов оказались устойчивыми к тле (табл. 2), то есть эти формы защищены аллелями генов устойчивости, нетождественных *Grb1* и *Grb3*. Образцы к-4097, к-4103 и к-9058 не имеют гена *Grb3* (взаимодействие генотипов с клоном 3), а попарное сравнение взаимодействия этих форм и линии CI 4888 с клонами 1, 2 и 4 указывает, что образцы местного овса из Казахстана не имеют и гена *Grb1*. Все клоны насекомого слабо повреждают линию CI 1580 с геном *Grb2*. Это свидетельствует о различии генетического контроля устойчивости линии CI 1580 и образцов к-4097, к-4103 и к-9058, а также к-8819

(взаимодействие с клоном 3). Наконец, взаимодействие трех образцов, для которых характерен широкий спектр варьирования степени поврежденности растений, с тлями клонов 1, 2, 4 и 5 свидетельствует, что эти формы имеют различные аллели устойчивости к *Sch. graminum*.

Для проверки предположения о том, что выделившиеся формы могут иметь гены устойчивости к обыкновенной злаковой тле со слабым фенотипическим проявлением, изучили устойчивость пяти образцов овса к 20 клонам *Sch. graminum* из краснодарской популяции. Наблюдали отчетливо выраженную устойчивость у всех образцов и умеренную, оцениваемую баллами 5–7, у образцов местного овса к-8773 и к-8861, причем устойчивость обоих типов проявлялась лишь против некоторых клонов тли (табл. 3).

Таблица 2. Устойчивость образцов овса к тест-клонам *Schizaphis graminum*

Номер по каталогу ВИР	Образец	Тест-клон <i>Schizaphis graminum</i>					
		1	2	3	4	5	6
4116	Местный	R	R	R	R	R	R
6945	«	R	R	R	R	R	R
7875	«	R	R	R	R	R	R
7888	«	R	R	R	R	R	R
8549	«	R	R	R	R	R	R
8556	«	R	R	R	R	R	R
8691	«	R	R	R	R	R	R
8800	«	R	R	R	R	R	R
8819	«	R	R	S	R	R	R
8827	«	R	R	R	R	R	R
8947	«	R	R	R	R	R	R
8949	«	R	R	R	R	R	R
4097	«	R	S	R	S	S	S
4103	«	S	R	R	R	S	S
9058	«	R	R	R	S	R	S
13901	CI 1580 (<i>Grb2</i>)	R	R	R	R	R	R
13902	CI 4888 (<i>Grb3</i>)	R	R	S	S	S	S
13903	PI 186270 (<i>Grb1</i>)	R	R	R	R	S	S

R – устойчивость образца, S – восприимчивость.

Таблица 3. Устойчивость образцов овса к 20 клонам *Schizaphis graminum*

Образец	Устойчивость к популяции тли, балл	Частота клонов, обуславливающих различную устойчивость (1–10 баллов)		
		1–4	5–8	9–10
к-6966	4, 7, 9	0.75	–	0.25
к-8537	3, 7, 8, 9	0.85	–	0.15
к-8773	6, 7, 10	0.20	0.25	0.55
к-8859	5, 6, 10	0.15	–	0.85
к-8861	4, 7, 10	0.20	0.20	0.60

Обсуждение

Наши исследования показали, что 52% образцов местного овса из Казахстана несут гены устойчивости к обыкновенной злаковой тле. Однородны по изученному признаку лишь 2 образца, гетерогенны – 133. Растения с высоким уровнем устойчивости выявлены у 77 образцов (30% от общего числа), 10 изученных форм дифференцированы лишь на 2 фенотипических класса с преобладанием (79–96%) высокоустойчивого компонента, однако чаще всего проявление устойчивого компонента у выделившихся образцов варьировало в широких пределах (поврежденность листовой поверхности от 10% до 70%).

В коллекции ВИР имеется лишь 24 образца местного овса из других стран Центральной Азии. Мы изучили 16 и выделили гетерогенный образец из Кыргызстана, который содержит компонент с отчетливо проявляющейся устойчивостью к *Sch. graminum*.

Оценка поврежденности 15 образцов местного овса из Казахстана тест-клонами насекомого позволила установить, что:

- у 12 изученных образцов аллели генов устойчивости к обыкновенной злаковой тле отличаются от идентифицированных ранее генов *Grb1* и *Grb3*;

- образец к-8819 защищен аллелями генов устойчивости, отличающимися от *Grb1*, *Grb2* и *Grb3*, а также от аллелей, имеющих у остальных 14 выделенных форм овса;

- образцы к-4097, к-4103 и к-9058 имеют эффективные лишь против отдельных клонов *Sch. graminum* аллели устойчивости, которые различаются между собой и отличаются от аллелей, имеющих у 12 местных форм овса, а также от *Grb1*, *Grb2* и *Grb3*.

Эксперименты с клонами насекомого показали, что широкое варьирование степени повреждения растений обусловлено, прежде всего, присутствием в краснодарской

популяции клонов с различной вирулентностью к изученным образцам овса. Нам удалось выявить и слабо проявляющуюся устойчивость растений к отдельным клонам *Sch. graminum*. Образцы овса, для которых характерно значительное варьирование степени поврежденности растений, имеют гены устойчивости, эффективные против большей (у образца к-8819) или меньшей (к-4097, к-4103, к-9058) части природной популяции *Sch. graminum*. Показано дифференциальное взаимодействие насекомого не только с главными, но и со слабо проявляющимися генами устойчивости растений.

Высокая частота устойчивых к обыкновенной злаковой тле форм среди образцов местного овса из Казахстана свидетельствует о давности взаимоотношений растения-хозяина и консумента. Н.И. Вавилов указывал, что «...иммунитет вырабатывается под влиянием естественного отбора только в тех условиях, которые содействуют развитию инфекции, и, как правило, выявляются только там, где имеется в наличии тот или другой паразит, в отношении которого отбор вырабатывает иммунитет» (Вавилов, 1964). По мнению Г.Х. Шапошников (1967), вероятный центр происхождения большинства групп тлей – горные районы Манчжурско-Китайской и Индийской подобластей.

Ранее мы нашли, что наиболее устойчивы к обыкновенной злаковой тле местные образцы зернового сорго из Китая (Radchenko, 2000), продемонстрировали высокую частоту устойчивых к *Sch. graminum* образцов среди местных ячменей из стран Восточной и Южной Азии (Radchenko et al., 2014), выявили значительное число устойчивых форм среди местных образцов овса из ряда стран Азии (Radchenko et al., 2018). Наконец, свыше половины образцов овса из Казахстана имеют более или менее эффективные гены устойчивости к насекомому. Результаты нашей работы демонстрируют справедливость еще двух «законов естественного иммунитета», сформулированных Н.И. Вавиловым: «Зная эволюцию данного культурного растения, ... можно предвидеть в значительной мере местонахождение интересующих селекционера иммунных форм»; «Эколого-географические правильности в выявлении иммунитета являются сравнительно общими, присущими различным растениям, относящимся нередко к разным родам и даже семействам. Формирование восприимчивых или иммунных конституций охватывает не только отдельные виды или культуры, но целые группы их, связанные в своей эволюции с одной и той же территорией» (Вавилов, 1964).

Исследование выполнено при поддержке РФФИ (грант № 20-016-00048)

и в рамках государственного задания ВИР (бюджетный проект № 0662-2019-0006).

Библиографический список (References)

- Вавилов НИ (1964) Законы естественного иммунитета растений к инфекционным заболеваниям. (Ключи к нахождению иммунных форм). В кн.: Избранные труды. Т. 4. М.-Л.: Наука. 430–488
- Радченко ЕЕ (2008) Злаковые тли. В кн.: Радченко ЕЕ (ред) Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия. 214–257
- Радченко ЕЕ, Чумаков МА, Лоскутов ИГ (2019) Устойчивость образцов овса из Дагестана и стран Кавказа к обыкновенной злаковой тле. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 180(3):106–109. <http://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-3-106-109>.
- Шапошников ГХ (1967) Эволюция тлей в связи со специализацией и сменой хозяев. *Автореф. дис. ... д.б.н.* Л. 41 с.
- Boozaya-Angoon D, Starks KJ, Edwards LH, Pass H (1981) Inheritance of resistance in oats to two biotypes of the greenbug *Environm Entomol* 10(4):557–559. <http://doi.org/10.1093/ee/10.4.557>.

- Gardenhire JH (1964) Inheritance of greenbug resistance in oats. *Crop Sci* 4(4):443. <http://doi.org/10.2135/cropsci1964.0011183X000400040041x>.
- Harvey TL, Kofoid KD, Martin TJ, Sloderbeck PE (1991) A new greenbug virulent to E-biotype resistant sorghum. *Crop Sci* 31(6):1689–1691. <http://doi.org/10.2135/cropsci1991.0011183X003100060062x>.
- Kindler SD, Spomer SM (1986) Biotypic status of six greenbug (Homoptera: Aphididae) isolates. *Environ Entomol* 15(3):567–572. <http://doi.org/10.1093/ee/15.3.567>.
- Pike KS, Schaffner RL (1985) Development of autumn populations of cereal aphids, *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae) and their effects on winter wheat in Washington state. *J Econ Entomol* 78(3):676–680. <https://doi.org/10.1093/jee/78.3.676>.
- Puterka GJ, Peters DC, Kerns DL, Slosser JE et al (1988) Designation of two new greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes G and H. *J Econ Entomol* 81(6):1754–1759. <http://doi.org/10.1093/jee/81.6.1754>.
- Radchenko EE (2000) Identification of genes for resistance to greenbug in sorghum. *Russian J Genetics* 36(4):408–417
- Radchenko EE, Kuznetsova TL, Chumakov MA, Loskutov IG (2018) Greenbug (*Schizaphis graminum*) resistance in oat (*Avena* spp.) landraces from Asia. *Genetic Res Crop Evol* 65(2):571–576. <http://doi.org/10.1007/s10722-017-0554-9>
- Radchenko EE, Kuznetsova TL, Zveinek IA, Kovaleva ON (2014) Greenbug resistance in barley accessions from East and South Asia. *Russian Agric Sci* 40(2):117–120 <http://doi.org/10.3103/S1068367414020177>
- Starks KJ, Burton RL, Merkle OG (1983) Greenbugs (Homoptera: Aphididae) plant resistance in small grains and sorghum to biotype E. *J Econ Entomol* 76(4):877–880. <http://doi.org/10.1093/jee/76.4.877>
- Wilson RL, Starks KJ, Pass H, Wood EAJr (1978) Resistance in four oat lines to two biotypes of the greenbug. *J Econ Entomol* 71(6):886–887. <https://doi.org/10.1093/jee/71.6.886>

Translation of Russian References

- Radchenko EE (2008) [Cereal aphids]. In: Radchenko EE (ed) *Izucheniye geneticheskikh resursov zernovykh kultur po ustoychivosti k vrednym organizmam. Metodicheskoye posobiye* [The study of the genetic resources of cereal crops for resistance to harmful organisms]. Moscow: Rosselchozacademia. 214–257 (In Russian)
- Radchenko EE, Chumakov MA, Loskutov IG (2019) [Greenbug resistance in oat accessions from Dagestan and Caucasus countries]. (In Russian) *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding* 180(3):106–109. <http://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-3-106-109>
- Shaposhnikov GK (1967) [Evolution of aphids related with specialization and change of the hosts]. *Abstr. Dr. Biol. Thesis*. Leningrad. 41 p. (In Russian)
- Vavilov NI (1964) [Laws of natural immunity of plants to infectious diseases. Keys to finding immune forms]. In: *Selected works*, vol 4. Moscow, Leningrad: Nauka, 430–488 (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(3), p. 187–191

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13578>

Full-text article

GREENBUG RESISTANCE OF OAT LANDRACES FROM CENTRAL ASIA

E.E. Radchenko*, M.A. Chumakov, I.G. Loskutov

N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

*corresponding author, e-mail: eugene_radchenko@rambler.ru

The greenbug (*Schizaphis graminum*) is a dangerous pest of cereals in Southern Russia. Breeding of resistant varieties is an effective and eco-friendly way to control this insect. Its differential interaction with host plants substantiates the search for new resistance donors. We evaluated 276 accessions of oat landraces from Central Asian countries (Kazakhstan, Uzbekistan, Kyrgyzstan, and Turkmenistan) to the Krasnodar population and respective isolated clones of the aphid. We identified two pest resistant accessions from Kazakhstan (k-6945 and k-8691) and found 133 accessions from Kazakhstan being heterogeneous including 77 forms with high and moderate resistance and 56 – with only moderate resistance. All accessions from Uzbekistan and Turkmenistan were susceptible to *Sch. graminum*. Accession k-9993 from Kyrgyzstan was heterogeneous in terms of resistance. A wide variation in the damage degree of the most oat forms was mostly due to the virulence heterogeneity of the aphid population. Damage evaluation of 15 accessions from Kazakhstan by *Sch. graminum* clones showed that the alleles of greenbug resistance genes of these forms differ from the previously identified *Grb1* and *Grb3* genes.

Keywords: oat, *Schizaphis graminum*, genes for resistance, plant breeding

Received: 30.06.2020

Accepted: 28.08.2020

УСТОЙЧИВОСТЬ К ФИТОФТОРОЗУ КЛОНОВ КАРТОФЕЛЯ В РАСЩЕПЛЯЮЩИХСЯ ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

Н.М. Зотеева

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

e-mail: zoteyeva@rambler.ru

Фитофтороз относится к одной из главных проблем картофелеводства. Эффективным способом повышения уровня устойчивости картофеля служит гибридизация с использованием диких видов *Solanum*. Однако, этот метод имеет недостатки, связанные с передачей гибридам нежелательных признаков от диких видов. Для решения проблем селекции требуется поиск новых источников устойчивости среди образцов культурного типа, к которым относятся межвидовые селекционные клоны с улучшенными агрономическими характеристиками. В работе изучена устойчивость клонов трех гибридов, полученных от скрещиваний устойчивого к фитофторозу селекционного клона SW93-1015×adg с тремя чувствительными сортами *Solanum tuberosum* – ‘Аврора’, ‘Дезире’ и ‘Валор’. Преобладание числа устойчивых растений отмечено в популяциях гибридов (SW93-1015×adg)×Аврора и (SW93-1015×adg)×‘Дезире’. По результатам оценки, соотношение устойчивых и неустойчивых фенотипов было найдено равным у гибрида ‘Валор’×(SW93-1015×adg). Для клона SW93-1015×adg показана эффективная передача устойчивости гибридному потомству. Во всех расщепляющихся популяциях гибридов от скрещиваний SW93-1015×adg с чувствительными к фитофторозу сортами возможен отбор устойчивых растений. Клон SW93-1015×adg может быть использован в гибридизации с неустойчивыми сортами, обладающими другими хозяйственно-ценными признаками.

Ключевые слова: фитофтороз картофеля, источник устойчивости, гибридизация, оценка потомства

Поступила в редакцию: 29.04.2020

Принята к печати: 30.08.2020

Введение

Во всем мире картофель является одной из важнейших продовольственных культур. Фитофтороз картофеля, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans* Mont. (de Bary), известен как вредоносное заболевание картофеля, имеющее важное экономическое значение. В настоящее время фитофтороз ежегодно приводит к многомиллиардным убыткам как при производстве картофеля, так и томатов (Fry, 2008). Многие коммерческие сорта подвержены заражению *P. infestans* и должны регулярно обрабатываться фунгицидами. В необработываемых посадках болезнь может уничтожить урожай картофеля полностью. Государственные агентства многих европейских стран ищут пути снижения применения пестицидов в связи с финансовыми затратами и поддержкой благополучия окружающей среды. При этом подсчитано, что потери урожая при отсутствии частых обработок составляют 22% (Stevenson 1994). Устойчивость сортов может обеспечить экономически менее затратный и экологически безопасный способ контроля болезни. Такой материал может быть создан при гибридизации с источниками устойчивости и дальнейшим отбором устойчивых растений из расщепляющихся гибридов (Jansky, Rouse, 2003).

Весьма перспективным является включение в программы скрещиваний устойчивых генотипов, эффективно передающих признак гибридным потомствам. Селекционные клоны и большинство современных сортов картофеля выведены с участием диких и андийских культурных видов картофеля. Существуют проблемы скрещиваемости сортов и селекционных клонов картофеля с гибридами,

имеющими в своих родословных дикие виды. Они могут быть вызваны различными факторами, в том числе, несоответствием числа хромосом (Jansky, 2006). Многие селекционные клоны, полученные от межвидовых скрещиваний, известны как источники высокой устойчивости к *P. infestans* (Ortiz 1998).

Для улучшения хозяйственно-ценных характеристик клубней у гибридных клонов, проводят беккроссы, используя сорта и перспективные клоны *Solanum tuberosum* L. В селекционных программах используют как внутривидовую (*S. tuberosum*), так и межвидовую гибридизацию. В учреждениях Северо-Западного региона РФ, с климатом, благоприятствующим ежегодному распространению фитофтороза, успешно проводятся работы по созданию устойчивого к патогену селекционных клонов с использованием межвидовой гибридизации (Евдокимова, Калашник, 2018). Для расширения и обогащения генетического пула создаваемого селекционного материала ведется поиск новых источников устойчивости к болезни. Однако, не все гибриды, полученные от гибридизации с дикими видами, могут успешно скрещиваться с сортами. В данной работе в качестве источника устойчивости использовали оригинальный межвидовой гибрид от скрещивания селекционного клона с высоким уровнем устойчивости к фитофторозу SW93-1015 (Ali et al., 2012) с образцом *S. tuberosum* spp. *andigenum*. Цель исследования – оценить эффективность передачи устойчивости в гибридном потомстве, полученном от скрещиваний этого гибрида с чувствительными к болезни сортами *S. tuberosum*.

Материал и методы

По устойчивости к фитофторозу изучали потомства разных сеянцев F₁ трех гибридов, полученных от скрещиваний высокоустойчивого клона гибридного

происхождения SW93-1015 × adg с тремя неустойчивыми сортами *S. tuberosum* – ‘Аврора’ из коллекции ВИР и ‘Дезире’ и ‘Валор’ из коллекции Шведского Университета

сельскохозяйственных наук (SLU-Alnarp). Всего изучен 91 клон. Оригинальный селекционный клон получен, в свою очередь, от скрещивания фитофтороустойчивого селекционного клона SW93-1015 с образцом *S. andigenum* Juz. et Buk. Он был использован в двух комбинациях скрещиваний в качестве материнской формы (с сортами 'Аврора' и 'Дезире') и в одной – (с сортом 'Валор') в качестве опылителя. Заражение отделенных долей листьев гибридов Валор × (SW93-1015 × adg) и (SW93-1015 × adg) × Дезире осуществляли на технической базе SLU-Alnarp. Гибрид (SW93-1015 × adg) × Аврора тестировали на базе «Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР» в г. Пушкин (С-Пб.).

Для инокулирования *P. infestans* использовали растения, выращиваемые в поле, в фазе «начала цветения». Изолят 88069 (Alpizar et al. 2007) поддерживали на ржано-агаровой среде в чашках Петри при 17°C в темноте (Kamoun et al., 1998). Мицелий смывали дистиллированной водой, фильтровали, с помощью хемоцитометра доводили концентрацию инокулюма до 30000 спорангиев/мл. Затем его инокулировали при +4°C.

Со среднего яруса опытных растений собирали по 6 долей листьев (две повторности), укладывали их в кюветы,

высланные влажной фильтровальной бумагой и накрывали стеклами. Доли листьев заражали, нанося каплю инокулюма на центральную часть долей листьев, и инкубировали при 17°C при световом режиме 16/8 часов день/ночь. Оценку устойчивости проводили на 8-е сутки после инокулирования в соответствии с методом, описанным Х. Зажицкой (Zarzycka, 2001) с использованием шкалы от 1 до 9 баллов, где балл 9 – отсутствие симптомов болезни, балл 1 – поражение всей площади листа. Устойчивыми считали растения с баллами оценки от 6 до 9, чувствительными – от 1 до 5. В качестве устойчивого контроля использовали листья растений образца *S. guerreroense* Сог., в качестве чувствительного – листья неустойчивых сортов 'Бинтье' и 'Дориза'.

Гибридизация выполнена методом опыления кастрированных цветков на декапитированных побегах материнских растений. Цветущие стебли растений картофеля были срезаны и помещены в стеклянные банки с водопроводной водой. Цветки материнских растений эмаскулировали и затем опыляли пылью, собранной с опылителей. Семена экстрагировали из ягод, достигших спелости (мягкая консистенция).

Результаты и обсуждение

Клон SW93-1015 из коллекции SLU характеризуется высокой устойчивостью к фитофторозу (Ali et al., 2012) и полевой устойчивостью к вирусу Y картофеля (Zoteyeva et al., 2017). У данного клона идентифицирован ген *R2 like* устойчивости к фитофторозу (Lenman et al. 2016). Селекционный клон SW93-1015 характеризуется небольшим количеством клубней и невысокой урожайностью, он имеет повышенное содержание α-чаконина в клубнях (Carlson-Nilsson et al., 2012), поэтому его необходимо вовлекать в дальнейшую селекцию, проводя скрещивания с культурными видами. Андийский культурный вид *S. tuberosum* subsp. *andigena* обладает нейтральной фотопериодической реакцией, в связи с чем его растения способны формировать полноценный урожай клубней в условиях продолжительного светового дня. Его преимуществом является также устойчивость к вирусам, в том числе, вредоносному вирусу скручивания листьев (Mihovilovich et al., 2007). Многие попытки получить гибриды с SW93-1015 не были успешными, поэтому в программе гибридизации с культурными видами, клон SW93-1015 был вначале скрещен с образцом *S. tuberosum* subsp. *Andigena* (adg) из коллекции ВИР (к-8077), где он использован в качестве «мостика» для последующих скрещиваний с сортами *S. tuberosum*.

Клоны гибрида SW93-1015 × adg обладают высокой устойчивостью к фитофторозу и продуктивностью (Zoteyeva et al., 2017), а также высокой устойчивостью к альтернариозу (Odilbekov et al., 2014). При генотипировании ряда полученных нами гибридов, у SW93-1015 × adg детектирован маркер гена устойчивости к фитофторозу *R2-like*, переданный от материнской формы (Зотеева и др. 2017).

Один из клонов SW93-1015 × adg был использован в скрещиваниях с сортами *S. tuberosum*. В гибридизацию привлечены три неустойчивых сорта. Параллельно с отбором устойчивых гибридных растений от этих комбинаций скрещиваний, были оценены донорские свойства клона

SW93-1015 × adg. Все три сорта, использованные в качестве родительских форм – материнской (сорт 'Валор') и отцовской (сорта 'Аврора' и 'Дезире') в скрещиваниях с этим клоном, проявляли чувствительность к фитофторозу. В наших опытах листья 'Desirée' поражаются при искусственном инокулировании (Зотеева и др., 2019). О чувствительности этого сорта к фитофторозу сообщают Ali с соавторами (Ali et al., 2014). В полевых условиях 2016, 2017 гг., благоприятных для развития *P. infestans*, поражение ботвы у сорта 'Валор' происходило раньше, чем у сорта 'Дезире'. В конце периода вегетации устойчивость этого сорта оценивали баллом 3.0. В полевых условиях растения сорта 'Аврора' поражались в более поздние сроки, чем растения сортов 'Дезире' и 'Валор'.

Распределение по устойчивости в популяции гибрида сорт 'Валор' × (SW93-1015 × adg), где устойчивый клон SW93-1015 × adg был использован в качестве опылителя, составило 16 устойчивых и 14 неустойчивых растений. Общий средний балл устойчивости (среднее из двух повторностей) составил 5.4. У гибрида, где клон SW93-1015 × adg использован в качестве материнской формы, а опылителем был сорт 'Дезире', 22 растения были отнесены к устойчивым и 9 – к неустойчивым. Общий балл устойчивости здесь составил 6.5. В обоих вариантах на листьях отмечены симптомы в виде реакции сверхчувствительности (рис. а,б). В популяции гибрида (SW93-1015 × adg) × Аврора листья 22 растений не поражались, 8 растений оказались неустойчивыми; общий балл устойчивости составил 6.6.

Распределение растений по устойчивости к *P. infestans* выявило более частую встречаемость устойчивых фенотипов в гибридах (SW93-1015 × adg) × Аврора и (SW93-1015 × adg) × 'Дезире', общие баллы устойчивости в обоих вариантах были на одном уровне.

При лабораторном фенотипировании гибрида, полученного от скрещивания сорта Аврора с устойчивым

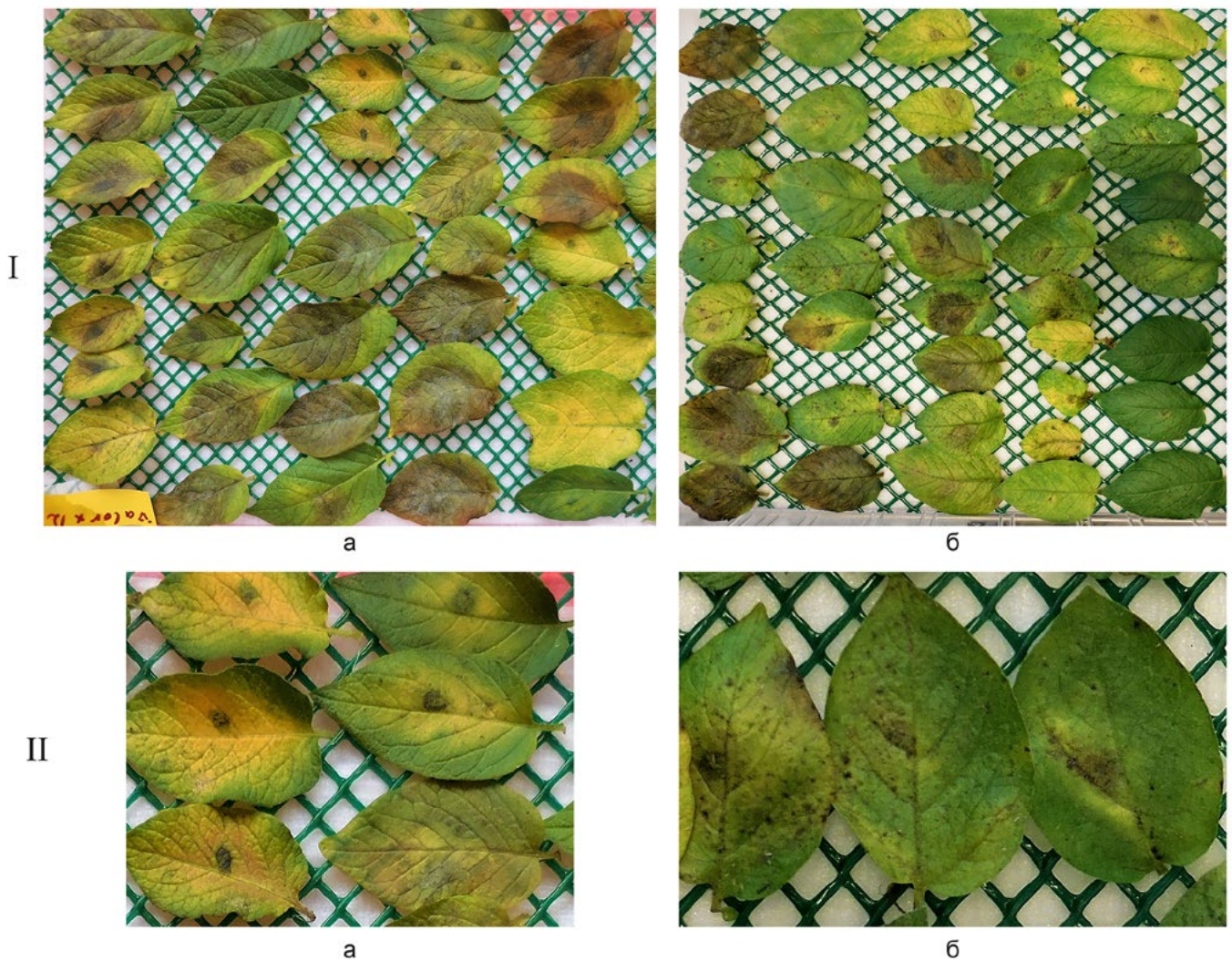


Рисунок. I. Реакция растений гибридов ‘Валор’ × (SW93-1015 × adg) (а) и (SW93-1015 × adg) × ‘Дезире’ (б) на заражение *P. infestans* (8-е сутки после заражения).

II. Реакция сверхчувствительности на долях листьев гибридов а и б

Figure. I. Response of the leaflets of hybrids ‘Valor’ × (SW93-1015 × adg) (a) and (SW93-1015 × adg) × ‘Desirée’ (b) to inoculation with *P. infestans* (8th day post inoculation).

II. Hypersensitivity reaction on leaflets of hybrids a and b

к фитофторозу образцом мексиканского вида *Solanum neoantipoviczii* Buk. отмечено высокое число устойчивых растений; у всех из них ПЦР-анализ выявил наличие гена *R2-like* устойчивости к фитофторозу, которым обладает клон SW93-1015 (Зотеева и др., 2019). У двух изученных с использованием молекулярных маркеров устойчивых межвидовых гибридов, полученных от скрещиваний SW93-1015 × adg (материнское растение) с сортом ‘Desirée’ и сложным межвидовым гибридом, был детектирован маркер гена *R2-like* (Зотеева и др., 2017). Возможно, устойчивость обусловлена эффектом этого гена у гибридных потомств. Гибрид (SW93-1015 × adg) × Валор квалифицирован как неперспективный и не был включен в молекулярный скрининг.

Высокая доля устойчивых растений в расщепляющихся гибридных популяциях, полученных от скрещиваний с

клоном SW93-1015 × adg, показывает, что этот клон является эффективным источником устойчивости к фитофторозу. Во всех трех гибридах, полученных от скрещиваний с клоном SW93-1015 × adg с неустойчивыми сортами, использованными как в качестве материнского, так и отцовских родительских форм, устойчивые фенотипы составили от половины до двух третей растений. В комбинации, где SW93-1015 × adg служил отцовским растением, доля неустойчивых растений была выше. Это может быть связано с более эффективной передачей признака в случаях, когда устойчивый родитель используется в качестве материнской формы.

Этот клон может быть использован в гибридизации с неустойчивыми сортами, обладающими другими хозяйственно-ценными свойствами.

Автор выражает благодарность Рамешу Ветукури (Dr. Ramesh Vetukuri) из Шведского Университета сельскохозяйственных наук (Swedish University of Agricultural Sciences) за предоставление изолята *P. infestans* 88069.

Работа частично поддержана частным фондом E. and I. Nilssons (проведение скрещиваний, получение гибридов, тестирование двух комбинаций скрещиваний) и государственным заданием согласно тематическому плану ВИР по теме

№ 0662–2018–0019 «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 (тестирование одного гибрида, подготовка статьи).

Библиографический список (References)

- Евдокимова ЗЗ, Калашник МВ (2018) Устойчивость гибридов второго клубневого поколения к полевой популяции *Phytophthora infestans* и выделение хозяйственно-ценных клонов. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 179(2):151–158. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-2-151-158>
- Зотеева НМ, Антонова ОЮ, Клименко НС, Апаликова ОВ, Carlson-Nilsson U и др (2017) Использование молекулярных маркеров R генов и типов цитоплазмы при интрогрессивной гибридизации диких полиплоидных мексиканских видов картофеля. *Сельскохозяйственная биология* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus>
- Зотеева НМ, Клименко НС, Хютти АВ (2019). Пирамидирование генов устойчивости к патогенам в комбинации скрещивания мексиканского вида картофеля *Solanum neoantipoviczii* с отбором из сорта 'Аврора'. *Вестник защиты растений* 102 (4):16–22 <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-16-22>
- Ali A, Li Moushib, M Lenman, F Levander, K Olsson, U Carlson-Nilsson, N. Zoteyeva, E Liljeroth, E Andreasson (2012) Paranoid potato. *Phytophthora*-resistant genotype shows constitutively activated defense. *Plant Signal Behav* 7(3):400–408
- Ali A, E Alexandersson, M Sandin, S Resjö, M Lenman, P Hedley, F Levander, E Andreasson (2014) Quantitative proteomics and transcriptomics of potato in response to *Phytophthora infestans* in compatible and incompatible interactions. *BMC Genomics* 15(1):497. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-497>
- Alpizar LG., Carbone I, Ristaino JB (2007) An Andean origin of *Phytophthora infestans* inferred from mitochondrial and nuclear gene genealogies. *Proc Nat Acad Sci* 104(9):3306–3311
- Carlson-Nilsson U, Zoteyeva N, Reslow F (2012) Glycoalkaloid content in potato tubers with different levels of resistance to *Phytophthora infestans*. *Pro-Special Rep* 15: 195–200
- Fry W (2008) *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. *Mol Plant Pathol* 9:385–402
- Jansky S (2006) Overcoming hybridization barriers in potato. *Review Plant Breeding* 125:1–12
- Jansky SH, Rous D (2003) Multiple disease resistance in interspecific hybrids of potato. *Plant Dis* 87:266–272
- Kamoun S, van West P, Vleeshouwers VG, de Groot KE, Govers F (1998) Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elector protein INF1 elicitor. *Mol Plant Microbe In* 19:854–863
- Lenman M., Ali A, Mühlenbock P, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E, Champouret N, Vleeshouwers V.G., Andreasson E (2016) Effector-driven marker development and cloning of resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato breeding clone SW93-1015. *Theor Appl Genet* 129(1):105–115 <https://doi.org/10.1007/s00122-015-2613-y>
- Mihovilovich E, Alarson L, Perez AL, Alvarado J, Arrelano C, Bonierbale M (2007) High level of heritable resistance to Potato leafroll virus (PLRV) in *Solanum tuberosum* subsp. *andigena*. *Crop Sci* 47:1091–1103
- Odilbekov F, Carlson-Nilsson U, Liljeroth E (2014) Phenotyping early blight resistance in potato cultivars and breeding clones. *Euphytica* 197:87–97 <https://doi.org/10.1007/s10681-013-1054-4>
- Ortiz R (1998) Potato breeding via ploidy manipulations. *Plant Breed Rev* 16:15–86
- Stevenson WR (1994) The potential impact of field resistance to early blight on fungicide inputs. *Am Potato J* 71:317–324
- Zarzycka H (2001) Evaluation of resistance to *Phytophthora infestans* in detached leaflet assay. *Monografie i Rozprawy Naukowe IHAR Radzików* 10:75–77
- Zoteyeva N, U Carlson-Nilsson, T Bengtsson, K Olsson, R Ortiz (2017) Late blight and virus host-plant resistances, crossing ability and glycoalkaloids in Nordic potato germplasm. *Acta Agr Scand B-S P* 67(7):628–636 <https://doi.org/10.1080/09064710.2017.1324042>

Translation of Russian References

- Zoteyeva НМ, Антонова ОЮ, Клименко НС, Апаликова ОВ, Carlson-Nilsson U et al (2017) Ispolzovanie molekulyarnykh markerov R-genov i tipov tsytoplasmy pri introgressivnoy gibridizatsii dikikh polyploidnykh meksikanskikh vidov kartofelya [Facilitation of introgressive hybridization of wild polyploid Mexican potato species using DNA markers of R genes and of different cytoplasmic types]. *Agricultural Biology* 52:964–975. <http://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.5.964rus> (in Russian)
- Evdikimova ZZ, Kalashnik MV (2018) Ustoychivost gibridov vtorogo klubnovegogo pokoleniya k polevoy populatsii *Phytophthora infestans* i videlenie chozyaystvenno-tsennykh klonov [Resisatnce of the 2th generation clones to natural population of *Phytophthora infestans* and selection of clones with the marketable traits] *Proceedings on applied botany, genetics and breeding* 179(2):151–158. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-2-151-158> (in Russian)
- Zoteyeva НМ, Клименко НС, Хютти АВ (2019) Piramidirovanie genov ustoyczyvosti k patogenam v kombinatsii skreschivaniya meksikanskogo vida kartofelya *Solanum neoantipoviczii* s otborom iz sorta 'Aurora' [Pyramiding of pathogen resistance genes in cross combination of Mexican potato species *Solanum neoantipoviczii* and selection from variety 'Aurora']. *Plant protection news* 102(4):16–22. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-16-22> (in Russian)

RESISTANCE TO LATE BLIGHT OF POTATO CLONES IN SEGREGATING HYBRID POPULATIONS

N.M. Zoteyeva

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

e-mail: zoteyeva@rambler.ru

Late blight remains among the main problems of potato industry. Interspecific hybridization with the wild *Solanum* species is an efficient way to increase the resistance to this disease, though is accompanied with negative traits. To solve this problem, new sources of resistance, including resistant breeding clones with improved agronomic characteristics, are needed. In the present study, we investigated resistance of three hybrid populations derived from crosses breeding of resistant original clone SW93-1015×adg with susceptible cultivars: ‘Aurora’, ‘Desirée’ and ‘Valor’. High predominance of the resistant plants was found among the hybrids (SW93-1015×adg)×Aurora and (SW93-1015×adg)×‘Desirée’. The numbers of resistant and susceptible plants within hybrid Valor’×(SW93-1015×adg) were almost equal. Results showed the efficiency of clone SW93-1015×adg as the late blight resistance source. Within each segregating population, the selection of resistant clones was possible. Clone SW93-1015×adg can be used in breeding programs for the hybridization with susceptible cultivars characterized by other useful characteristics.

Keywords: late blight, resistance source, hybridization, hybrid progeny, assessment

Received: 29.04.2020

Accepted: 30.08.2020

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И УСТОЙЧИВОСТЬ К ФУНГИЦИДАМ ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *ILYONECTRIA CRASSA*

Е.М. Чудинова¹, В.А. Платонов¹, А.В. Александрова², С.Н. Еланский^{1,2*}

¹ Российский университет дружбы народов, Москва

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

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

Недавно было показано, что гриб-аскомицет *Ilyonectria crassa* способен поражать клубни картофеля. В работе впервые проанализированы биологические особенности и устойчивость к некоторым фунгицидам выделенного с картофеля штамма *I. crassa*. Последовательности видоспецифичных участков “картофельного” штамма совпали с полученными ранее для грибов, выделенных из корней нарцисса, женьшеня, осины и бука, лукович лилии и листа тюльпана. По-видимому, многие дикорастущие и садовые растения могут быть резерватами *I. crassa*. Исследуемый штамм заражал ломтики томата и картофеля, но не инфицировал целый плод томата и неповрежденный клубень картофеля. Это показывает, что *I. crassa* является раневым паразитом. Оценка устойчивости к флудиоксонилу, дифеноконазолу и азоксистробину на питательной среде показала высокую эффективность этих препаратов. Показатель ЕС50 (концентрация фунгицида, замедляющая в 2 раза скорость радиального прироста колонии относительно бесфунгицидного контроля) был равен 0.4; 7.4 и 4 мг/л соответственно. Возможность развития заболевания, вызываемого *I. crassa*, следует учитывать при фитопатологической оценке клубней картофеля и разработке мероприятий по защите растений.

Ключевые слова: патогены картофеля, хранение картофеля, флудиоксонил, дифеноконазол, азоксистробин, болезни картофеля

Поступила в редакцию: 08.06.2020

Принята к печати: 24.07.2020

Развитие фитопатогенных микроорганизмов приводит к высоким потерям на всех этапах выращивания и хранения картофеля. При планировании защитных мероприятий учитываются, как правило, хорошо известные возбудители болезней, такие как виды родов *Alternaria*, *Fusarium*,

Phoma, *Helminthosporium*, *Colletotrichum*, *Phytophthora* и др. Однако в последние годы появляется все больше сообщений о появлении на картофеле новых фитопатогенных микроорганизмов. Их биология слабо изучена, эффективность используемых на картофеле фунгицидов

в их отношении неизвестна, методы диагностики не разработаны. При массовом развитии они способны нанести ощутимый урон урожаю картофеля. Одним из таких микроорганизмов является гриб-аскомицет *Ilyonectria crassa* (Wollenw.) A. Cabral & Stous, впервые обнаруженный авторами на клубнях картофеля (Chudinova et al., 2019).

Материалы и методы

В работе использован штамм *I. crassa* 18KSuPT2, выделенный в 2018 году из пораженного клубня картофеля, выращенного в Костромской области. Клубень был поражен по типу сухой гнили с полостью, покрытой светло-коричневым мицелием. С помощью стерильной препаровальной иглы мицелий гриба переносили в чашку Петри с агаризованной средой (пивное сусло 10%, агар 1.5%, пенициллин 1000 ед/мл). Инкубировали чашки в темноте при 24 °С.

Для фотографирования, оценки размеров и морфологии спор и органов спороношения использовали световой микроскоп Leica DM2500 с цифровой камерой ICC50 HD и бинокулярный микроскоп Leica M80 с цифровой камерой IC80HD (Leica Microsystems, Германия).

Для выделения ДНК мицелий гриба наращивали в жидкой гороховой среде, после чего замораживали в жидком азоте, гомогенизировали, инкубировали в СТАВ буфере, очищали хлороформом, 2 раза промывали 70% спиртом. Подробно метод выделения ДНК описан в статье Kutuzova et al. (2017).

Для определения видовой принадлежности молекулярными методами и сравнения с другими известными штаммами *I. crassa* проводили ПЦР с праймерами, позволяющими амплифицировать видоспецифичные участки ДНК: ITS1-5,8S-ITS2 (праймеры ITS5/ITS4, White et al., 1990), участки генов β -тубулина (Bt2a/Bt2b, Glass, Donaldson, 1995) и фактора элонгации трансляции 1 α (tef1 α) (праймеры EF1-728F/EF1-986R, Carbone and Kohn, 1999). Ампликоны нужной длины экстрагировали из геля с помощью набора CleanUp компании «Евроген». Амплифицированные участки секвенировали с использованием набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, CA, USA) на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems 3730 xl (Applied Biosystems, CA, USA). Полученные последовательности нуклеотидов использовали для поиска соответствия в базе данных GenBank Национального центра биотехнологической информации США (NCBI). Филогенетический анализ проводили с помощью программы MEGA 6 (Tamura et al., 2013).

Результаты и обсуждение

На чашках Петри с сусло-агаром гриб образовывал колонии с белым хлопьевидным мицелием. Среда под мицелием окрашивалась в красно-коричневый цвет. При подсыхании среды гриб формировал споры двух типов на одиночных и агрегированных в небольшие спородохии конидиеносцах. Макроконидии вытянутые, цилиндрические, с одной-тремя септами, средняя длина 27.2 мкм с разбросом значений от 23.2 до 32.2 мкм, ширина – до 4.9 мкм (рис. 1). Средняя длина микроконидий – 14.3 мкм с разбросом значений от 10.3 до 18.1 мкм, ширина – до 4.0 мкм. Все макро- и микроморфологические признаки

В данной работе приведены результаты анализа выделенного из клубня картофеля штамма *I. crassa*. Изучены морфология колоний и мицелиальных структур *I. crassa*, последовательности нуклеотидов видоспецифичных участков ДНК, вирулентность к картофелю и томату, устойчивость к некоторым популярным фунгицидам.

Определение вирулентности проводили на целых зеленых плодах крупноплодного томата (сорт Дубрава) и клубнях картофеля (сорт Гала). Кроме того, для имитации поражения поврежденных плодов и клубней использовали дольки тех же плодов и клубней. Ломтики клубней помещали во влажные камеры, представляющие собой чашки Петри с мокрой фильтровальной бумагой на дне. На бумагу помещали предметное стекло, на которое, в свою очередь, клали ломтики клубней или плодов. Целые клубни и плоды также помещали в контейнеры, на дне которых была мокрая фильтровальная бумага. В центр ломтика (или на неповрежденную поверхность клубня или плода) помещали кусочек агара (5×5 мм) с гифами гриба после 5 дней выращивания на сусло-агаре.

Оценку устойчивости штаммов грибов к фунгицидам проводили в лабораторных условиях на агаризованной питательной среде. Изучали восприимчивость к фунгицидным препаратам Максим, КС (действующее вещество флудиоксонил, 25 г/л), Квадрис, КС (азоксистробин 250 г/л), Скор, КЭ (дифеноконазол 250 г/л) (Государственный каталог..., 2020). Оценку проводили в чашках Петри на среде сусло-агар с добавлением исследуемых препаратов в концентрациях действующего вещества 0.1; 1; 10 ppm (мг/л) (для флудиоксонила и дифеноконазола), 1; 10; 100 ppm (для азоксистробина) и на среде без фунгицида (контроль). Фунгицид добавляли в расплавленную и охлажденную до 60 °С среду, после чего среду разливали по чашкам Петри. Агаровый блок с мицелием гриба помещали в центр чашки Петри и культивировали при температуре 24 °С в темноте. Через 7 суток инкубирования проводили замер диаметров колоний в двух взаимно перпендикулярных направлениях; результаты измерений для каждой колонии усредняли. Эксперименты выполняли в трёх повторностях. По результатам анализов рассчитывали показатель ЕС₅₀, равный концентрации фунгицида, снижающей в 2 раза скорость радиального прироста колонии относительно бесфунгицидного контроля.

укладываются в диапазон варьирования вида *Ilyonectria crassa* (Cabral et al., 2012).

Последовательности видоспецифичных участков ДНК (ITS, β -тубулин, TEF 1 α) полностью совпали с сиквенсами ранее исследованных нами штаммов *I. crassa* (Chudinova et al., 2019, табл. 1). С целью изучения распространенности *I. crassa* в других регионах и анализа спектра поражаемых культур были проанализированы аналогичные последовательности ДНК в базе GenBank (табл. 1). Перекрытие составило от 86 до 100%. Сиквенсы всех трех участков ДНК “картофельного” штамма *I. crassa* были идентичны последовательностям штаммов, выделенных с лукавицы



Рисунок 1. Конидии *Ilyonectria crassa* под световым микроскопом

Figure 1. Light microscopy of the *Ilyonectria crassa* conidia
 лилии и корней нарцисса в Нидерландах и из корня женьшеня в Канаде. Других штаммов *I. crassa* с тремя проанализированными аналогичными последовательностями в открытых базах данных нам обнаружить не удалось. Однако анализ депонированных последовательностей ITS и β -тубулина показал присутствие *I. crassa* на листьях тюльпана в Великобритании. Грибы с похожей последовательностью ITS были выявлены при анализе микобиоты корней осины в Канаде и бука в Италии, клубней картофеля в Саудовской Аравии (табл. 1). Результаты данного исследования показывают, что *I. crassa* имеет глобальное распространение и способен поражать разные виды растений.

При определении патогенности на ломтиках томата и картофеля на 5 день диаметр поражения достигал 1.5 см. При этом исследуемый штамм не инфицировал целый плод томата и неповрежденный клубень картофеля.

Однако на томате наблюдалось поражение чашелистиков. Для исключения возможности контаминации из развившегося на ломтике клубня картофеля мицелия был выделен в чистую культуру изолят гриба. Он был полностью идентичен родительскому штамму. По-видимому, *I. crassa* является раневым паразитом.

Предпосадочная обработка семенных клубней фунгицидами позволяет снизить развитие болезней на растениях во время вегетации. Для подбора эффективных фунгицидов важно оценить, какие из них эффективны по отношению к *I. crassa*. В работе изучены широко распространенные действующие вещества фунгицидов – флудиоксонил, азоксистробин, дифеноконазол. Флудиоксонил входит в состав нескольких смесевых препаратов, используемых для протравливания семян и семенных клубней перед посадкой. Флудиоксонил (препарат Максим) используется также для обработки семенных клубней перед закладкой на хранение. Дифеноконазол и азоксистробин также входят в состав ряда препаратов, используемых для обработки семенного материала, а также в состав препаратов, предназначенных для обработки вегетирующих растений (Государственный каталог..., 2020).

Изучена скорость роста *I. crassa* на средах (рис. 2) с разными концентрациями действующих веществ: флудиоксонила ($EC_{50} = 0.4$ ppm), азоксистробина ($EC_{50} = 4$ ppm) и дифеноконазол ($EC_{50} = 7.4$ ppm) (табл. 2). Эти препараты можно признать высокоэффективными в отношении *I. crassa*, так как их EC_{50} существенно ниже рекомендованной концентрации препарата в рабочей жидкости, используемой для обработки клубней. Согласно Государственному каталогу... (2020), концентрация флудиоксонила в жидкости для обработки клубней картофеля составляет от 500 до 1000 ppm, азоксистробина (в жидкости для обработки дна борозды) – 3750–9375 ppm, дифеноконазола (в жидкости для обработки вегетирующих растений) – 187.5–625 ppm.

Таблица 1. Сходство сиквенсов видоспецифичных последовательностей штамма 18KSuPT2 и имеющихся в базе Genbank штаммов *Ilyonectria crassa*
 Table 1. The similarity of species-specific sequences of tested *Ilyonectria crassa* strain 18KSuPT2 and available in the Genbank database

Штамм	Растение-хозяин, место выделения	Номера сиквенсов, депонированных в GenBank, процент сходства			Ссылка
		ITS	β -тубулин	TEF 1 α	
17KSPT1 и 18KSuPT2	Клубень картофеля, Костромская обл.	MH818326	MH822872	MK281307	Chudinova et al., 2019, данная работа
CBS 158/31	Корни нарцисса, Нидерланды	JF735276 100	JF735394 100	JF735724 99.3	Cabral et al., 2012
CBS 139/30	Луковица лилии, Нидерланды	JF735275 100	JF735393 99.7	JF735723 99.3	
NSAC-SH-1	Корень женьшеня, Канада	AY295311 99.4	JF735395 100	JF735/725 99.6	
RHS235138	Лист тюльпана, Великобритания	KJ475469 100	KJ513266 100	НД	Denton, Denton, 2014
MT294410	Корни осины, Канада	MT294410 100	НД	НД	Ramsfield et al., 2020
ER1937	Бук, Италия	KR019363 99.65	НД	НД	Tizzani, Haegi, Motta. Direct submission
KAUF19	Клубень картофеля, Саудовская Аравия	HE649390 98.3	НД	НД	Gashgari, Gherbawy, 2013

НД = не депонировано

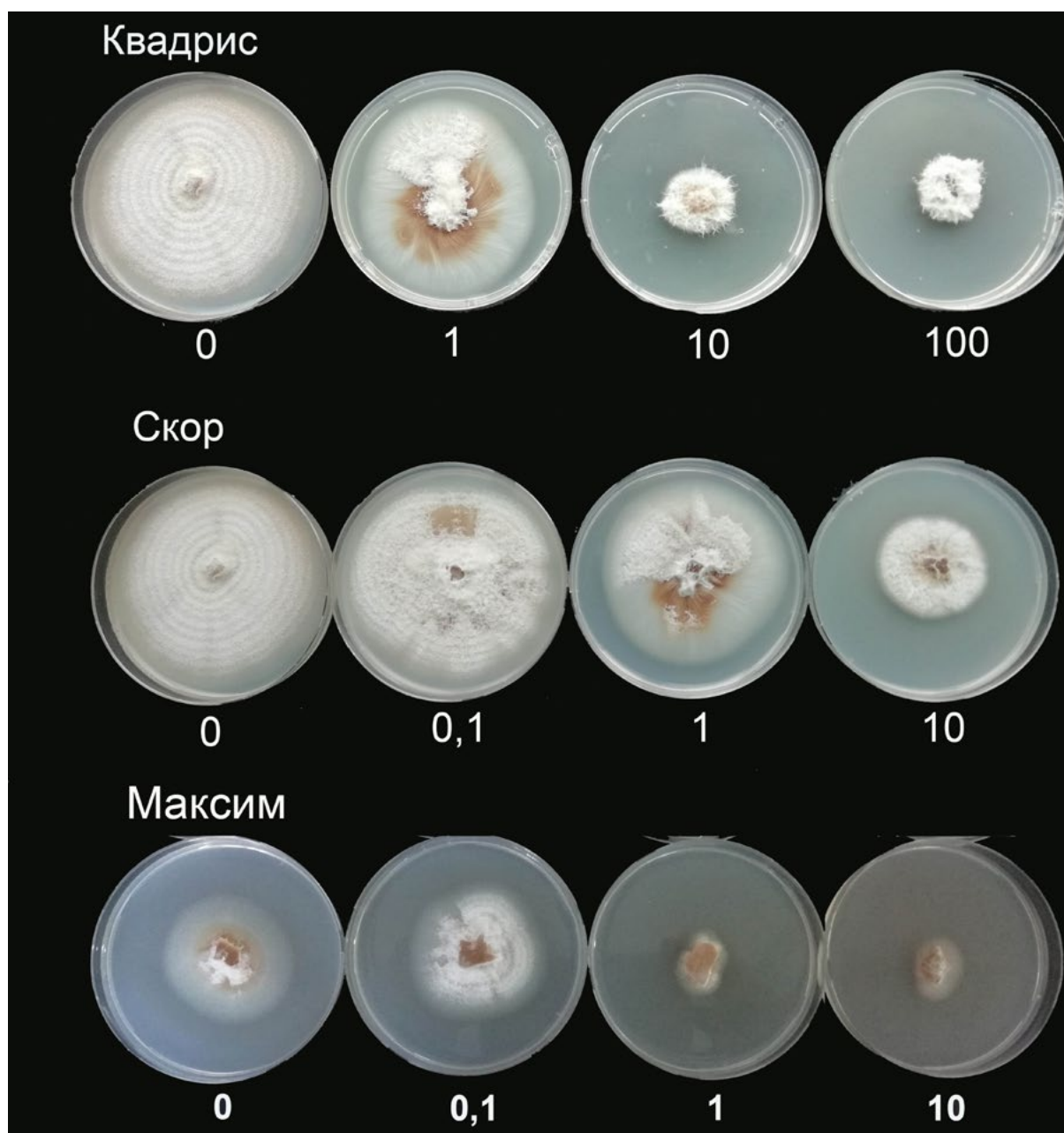


Рисунок 2. Тестирование устойчивости *Ilyonectria crassa* к фунгицидам методом выращивания на среде с различной концентрацией фунгицидов (ppm) по сравнению с контролем (0 ppm).

Фотографии сделаны на 21 день роста гриба для фунгицидов Квадрис и Скор, на 7 суток – для фунгицида Максим

Figure 2. Testing of resistance of *Ilyonectria crassa* to fungicides using growth on medium with different concentration of fungicides (ppm) as compared to control (0 ppm).

Pictures taken at day 21 for fungicides Kvadriss and Skor (upper and middle rows), at day 7 for fungicide Maksim (lower row)

Таблица 2. Устойчивость *Ilyonectria crassa* к фунгицидам
Table 2. Resistance of *Ilyonectria crassa* to fungicides

Фунгицид (действующее вещество)	Концентрация фунгицида, ppm	Диаметр колонии, мм±станд.откл.			EC ₅₀ , ppm
		3 день	5 день	7 день	
Контроль	0	17±2	33±5	47±3	0
Квадрис, КС (фзоксистробин)	1	18±1	34±2	48±2	4
	10	11±1	11±1	12±1	
	100	11±1	11±1	12±1	
Максим, КС (флудиоксонил)	0,1	16±1	28±2	48±2	0,4
	1	7±1	13±3	19±4	
	10	5±1	12±1	17±5	
Скор, КЭ (дифеноконазол)	0,1	18±1	35±2	48±1	7,4
	1	11±1	24±3	35±4	
	10	11±1	13±1	17±3	

В нашей работе штаммы *I. crassa* были выделены с клубней картофеля в Костромской и Московской (Chudinova et al., 2019) областях. Высокая доля штаммов грибов с сиквенсами ITS, идентичными *I. crassa*, была выявлена при анализе микобиоты клубней картофеля в Саудовской Аравии (Gashgari, Gherbawy, 2013). По-видимому, *I. crassa* встречается на картофеле не так редко, как может показаться. В наших экспериментах показано, что гриб мог поражать поврежденные плоды томата. Из литературных данных известно, что *I. crassa* способен развиваться в почве сапротрофно (Moll et al., 2016), а также поражать

самые разные растения, даже такие далёкие в таксономическом плане, как нарциссы, лилии, женьшень, осина, бук (табл. 1). По-видимому, многие дикорастущие и садовые растения могут быть резерватами *I. crassa*. Вышесказанное показывает, что при разработке мер защиты необходимо учитывать возможность поражения клубней картофеля этим грибом. Широко распространенные препараты для обработки клубней картофеля, содержащие флудиоксонил, азоксистробин и дифеноконазол, показали высокую фунгицидную эффективность в отношении *I. crassa*.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 20-016-00139).

Библиографический список (References)

- Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации. Часть I. Пестициды (2020). М.: Министерство сельского хозяйства. 830 с.
- Cabral A, Groenewald JZ, Rego C, Oliveira H, Crous PW (2012) *Cylindrocarpum* root rot: multi-gene analysis reveals novel species within the *Ilyonectria radicola* species complex *Mycol Prog* 11(3): 655–688. <https://doi.org/10.1007/s11557-011-0777-7>
- Carbone I, Kohn LMA (1999) Method for Designing Primer Sets for Speciation Studies in Filamentous Ascomycetes. *Mycologia* 91:553. <https://doi.org/10.2307/3761358>
- Chudinova E, Platonov V, Elansky S, Alexandrova A, Kokaeva L, and Krutyakov Y (2019) First report of *Ilyonectria crassa* on potato. *J Plant Pathol* 101(4):1293–1294. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00355-x>
- Denton JO, Denton GJ (2014). First report of *Ilyonectria* sp. affecting foliage of Tulipa. *New Disease Reports* 29:23. <http://doi.org/10.5197/j.2044-0588.2014.029.023>
- Gashgari RM, Gherbawy YA (2013) Pathogenicity of some *Fusarium* species associated with superficial blemishes of potato tubers. *Polish J Microbiol* 62(1):59–66.
- Glass NL, Donaldson GC (1995) Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl Env Microbiol* 61(4): 1323–1330.
- Kutuzova IA, Kokaeva LY, Pobedinskaya MA, Krutyakov YA et al (2017) Resistance of *Helminthosporium solani* strains to the fungicides applied for tuber treatment. *J Plant Pathol* 99(3):635–642. <https://doi.org/10.4454/jpp.v99i3.3950>.
- Moll J, Hoppe B, König S, Wubet T et al (2016) Spatial Distribution of Fungal Communities in an Arable Soil. *PLoS ONE* 11(2): e0148130. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148130>
- Ramsfield T, Shay PE, Trofymow T, Myrholm C et al (2020) Distance from the Forest Edge Influences Soil Fungal Communities Colonizing a Reclaimed Soil Borrow Site in Boreal Mixedwood Forest. *Forests* 11:427. <https://doi.org/10.3390/f11040427>
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30:2725–2729.
- White TJ, Bruns T, Lee SJWT, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc Guide Methods Appl* 18(1):315–322.

Translation of Russian References

- State catalogue of pesticides and agrochemicals approved for usage on the territory of Russian Federation. Part 1. Pesticides. (2020). Moscow: Ministry of Agriculture. 830 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(3), p. 196–201

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13431>

Short communication

BIOLOGY AND RESISTANCE OF PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *ILYONECTRIA CRASSA* TO FUNGICIDES

E.M. Chudinova¹, V.A. Platonov¹, A.V. Alexandrova², S.N. Elansky^{1,2*}

¹ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

² Moscow Lomonosov State University, Moscow, Russia

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

It has been recently shown that the ascomycete fungus *Ilyonectria crassa* can infect potato tubers. In this work, the biological characteristics and resistance to some fungicides of the “potato” *I. crassa* strain were analyzed for the first time. The sequences of the species-specific regions of the tested strain (rRNA and protein-coding genes) were identical to those obtained earlier for the fungi isolated from the roots of narcissus, ginseng, aspen, beech, as well as lily bulbs and tulip leaves. Apparently, many wild and garden plants can be carriers of *I. crassa*. The investigated strain infected tomato and potato slices but did not infect the whole intact tomato fruit and potato tuber. This demonstrated that *I. crassa* is a wound pathogen. Evaluation of resistance to fludioxonil, difenoconazole and azoxystrobin on a nutrient medium showed

high efficacy of these compounds. The EC_{50} index, i.e. the concentration of the fungicide slowing the rate of radial growth of the colony by 2 times as compared to the non-fungicidal control, was equal to 0.4; 7.4 and 4 mg/L, respectively. The possibility of disease induction by *I. crassa* should be considered for evaluation of potato tuber infections and development of protective measures.

Keywords: potato pathogens, fludioxonil, difenoconazole, azoxystrobin, storage of potato, potato diseases

Received: 08.06.2020

Accepted: 24.07.2020

OECD+WoS: 1.06+RQ (Mycology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13282>

Краткое сообщение

НОВЫЕ СВЕДЕНИЯ О РАСПРОСТРАНЕНИИ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ ГРИБА *FUSARIUM LANGSETHIAE*, ПРОДУЦИРУЮЩЕГО Т-2 И НТ-2 ТОКСИНЫ

О.П. Гаврилова*, Т.Ю. Гагкаева

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: olgavrilova1@yandex.ru

Ежегодный мониторинг зараженности зерна грибами рода *Fusarium* и определение их видового состава свидетельствуют о массовом распространении *Fusarium langsethiae*, способного продуцировать опасные Т-2 и НТ-2 токсины, в Северо-Западном и Центральном Федеральных округах (ФО) России. Микологический анализ урожая зерна 2018–2019 гг. позволил выявить новые места обнаружения *F. langsethiae*, в том числе в трёх областях Уральского ФО, где ранее этот вид был отмечен единично. Максимальная установленная заражённость *F. langsethiae* зерна овса достигала в 2019 г. 14%. Видовая идентификация выделенных из образцов зерна штаммов, проведённая с помощью ПЦР со специфичными праймерами, подтвердила их принадлежность к *F. langsethiae*. С помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией подтверждена способность гриба продуцировать значительные количества Т-2 и НТ-2 токсинов. В образцах зерна, заражённых этим видом, выявлены значительные суммарные количества Т-2 и НТ-2 токсинов (165–1230 мкг/кг). Необходимо дальнейшее уточнение ареала *F. langsethiae* и его внутривидового разнообразия для понимания путей распространения этого токсинопродуцирующего гриба.

Ключевые слова: *Fusarium langsethiae*, идентификация, ареал, микотоксины

Поступила в редакцию: 29.04.2020

Принята к печати: 28.08.2020

Введение

Более 20 лет назад, во время микологического анализа зараженности грибами зерновых культур в Норвегии, были выявлены нетипичные штаммы, сходные по своим морфологическим признакам с *Fusarium poae* (Peck) Wollenw. и охарактеризованные как «порошистая» разновидность этого гриба – «*F. poae powdery*» (Toth, Langseth, 1999). Детальное исследование их свойств привело к описанию в 2004 г. нового вида – *Fusarium langsethiae* Toth & Nirenberg, названного в честь известного норвежского миколога W. Langseth (Toth, Nirenberg, 2004). В начале изучения распространения этого гриба полагали, что его ареал ограничен территорией стран с умеренным климатом, поскольку в начале 2000-х его находили преимущественно на севере Европы (Imathiu et al., 2013). Спустя десятилетие *F. langsethiae* стал типичным видом микобиоты зерновых культур не только в центре (Łukanowski, Sadowski, 2008; Schöneberg et al., 2018), но и на юге Европы (Infantino, 2015; Morcia et al., 2016). В России первое обнаружение *F. langsethiae* в зерне ячменя, выращенном

в Ленинградской области, датируется 2003 г. (Gagkaeva et al., 2006). Позднее было установлено его присутствие на зерновых культурах из разных областей Европейской части страны (Гаврилова и др., 2009; Гагкаева и др., 2012; Минаева и др., 2013; Бучнева, 2019). Единичной находкой вида *F. langsethiae* за пределами европейской территории служил штамм из зерна овса из Ишимского района Тюменской области, идентифицированный нами в 2010 г. (Yli-Mattila et al., 2015), исходные семена овса для посева были получены из Краснодарского края, где *F. langsethiae* распространён (Гагкаева и др., 2014).

До настоящего времени *F. langsethiae* остаётся одним из самых интригующих видов грибов рода *Fusarium*. Круг поражаемых им растений ограничен возделываемыми зерновыми культурами (кроме кукурузы), в том числе озимыми, и даже на дикорастущих злаковых растениях этот гриб обнаружить не удалось (Гагкаева и др., 2014). Как правило, обитание *F. langsethiae* в тканях растений протекает бессимптомно (Imathiu et al., 2013). Нет доказательств

влияния этого гриба на всхожесть зерна, в котором он выявлен. *F. langsethiae* – эндофит, способный сохраняться в зерне, распространяться по тканям развивающегося растения и проникать в образующиеся семена нового урожая. В зерне овса и ячменя ДНК *F. langsethiae* может быть детектирована сразу после появления колоса/метелки, раньше, чем ДНК других видов *Fusarium* (Parrikka et al., 2012; Imathiu et al., 2013). Механизмы проникновения в растение, жизненный цикл, ареал *F. langsethiae*, а также влияние различных факторов на его адаптивные признаки активно исследуются (Nazari et al., 2014; Imathiu et al., 2016; Gavrilova et al., 2017; Divon et al., 2019; Schöneberg et al., 2019).

Особое внимание к *F. langsethiae* приковано ещё и потому, что он обладает способностью продуцировать высокие количества трихотеценовых микотоксинов группы А, таких как Т-2 и НТ-2 токсины, диацетоксисцирпенол (ДАС) и др. Т-2 и НТ-2 токсины относятся к одним из наиболее опасных микотоксинов для теплокровных организмов (Ueno, 1984; Schuhmacher-Wolz, 2010). Другими известными продуцентами этих токсичных метаболитов служат филогенетически близкие виду *F. langsethiae* – *Fusarium sporotrichioides* Scherb. и *Fusarium sibiricum* Gagkaeva, Burkin, Kononenko, Gavrilova, O'Donnell, Aoki & Yli-Mattila. Несмотря на высокую токсинопродуцирующую способность штаммов грибов всех трёх видов, выявленную как *in vitro* (Thrane et al., 2004; Yli-Mattila et al., 2011; Kokkonen et al., 2012; Гагкаева, Гаврилова, 2013;

Минаева и др., 2013), так и *in planta* (Nazari et al., 2014), основным источником Т-2 и НТ-2 токсинов в зерне полевых образцов считается именно *F. langsethiae* (Imathiu et al., 2013; Hofgaard et al., 2016). Даже низкая зараженность зерна продуцентами может приводить к выявлению значительных уровней микотоксинов. Ранее установлено, что температурный диапазон для оптимального продуцирования микотоксинов штаммами *F. langsethiae* составляет 15–35 °С, что значительно шире, чем у штаммов *F. sporotrichioides* — 20–25 °С (Nazari et al., 2014).

Зараженность зерна грибом *F. sporotrichioides* – продуцентом микотоксинов вызвала в разных регионах России в 1930–1940 гг. вспышку алиментарно-токсической алейки, которая привела к гибели тысяч людей (Саркисов, 1948; Шалак, 2009). Заболевание сопровождалось головной болью, высокой температурой, рвотой, последующим геморрагическим диатезом с образованием кровоточащих некротических язв на слизистых пищеварительного тракта и коже. Исследования токсикологической чистоты зерна, выращенного в России, неоднократно выявляли его загрязнение Т-2 и НТ-2 токсинами (Кононенко, Буркин, 2009; Кононенко и др., 2018; Gagkaeva et al., 2019).

Целью исследования являлось обобщение современной информации об ареале *F. langsethiae* на территории России, пополненной за счёт новых находок гриба в результате мониторинга зараженности грибами и контаминации микотоксинами зерна урожая 2018–2019 гг.

Материалы и методы

Образцы зерна разных культур урожая 2018–2019 гг. для анализа были получены из Центрального, Приволжского, Северокавказского, Уральского и Сибирского федеральных округов (ФО) РФ. Заражённость образцов зерна грибами определяли на питательной среде – картофельно-сахарозном агаре (КСА), приготовленном из отвара свежего картофеля (200 г/л среды) с добавлением сахарозы и агар-агара (по 15 г/л). Зерно предварительно стерилизовали 5% гипохлоритом натрия в течение 1–3 мин. Из каждого образца анализировали не менее 100 зёрен. По макроморфологическим и культуральным признакам идентифицировали грибы, которые выросли из зерна (Гагкаева и др., 2011). Далее получали моноспоровые культуры *F. langsethiae* и выявляли их микроморфологические признаки, используя низкоуглеводную синтетическую среду Ниренберг – популярную у исследователей для

идентификации видов грибов *Fusarium*. Видовую идентификацию всех штаммов *F. langsethiae* подтверждали с помощью ПЦР с тремя парами видоспецифичных праймеров, позволяющими чётко разграничить близкородственные виды *Fusarium*, продуцирующие Т-2 и НТ-2 токсины (Yli-Mattila et al., 2015). С помощью иммуноферментного анализа (ИФА) и метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) анализировали содержание микотоксинов в зерне, а также определяли токсинопродуцирующую способность штаммов *F. langsethiae*. Детектирование и количественное определение микотоксинов осуществляли по сертифицированным методикам (Кононенко и др., 1999; Гагкаева, Гаврилова, 2013; Gagkaeva et al., 2019, 2020).

Результаты и обсуждение

Ежегодный микологический анализ видового состава грибов, встречающихся в зерне из различных областей России, выявил присутствие не менее 10 видов рода *Fusarium*, из которых к широко распространённым на территории нашей страны относятся *F. avenaceum* (Fr.) Sacc., *F. sporotrichioides*, *F. poae* (Peck) Wollenw. и *F. graminearum* Schwabe. Обнаружение *F. langsethiae* в зерне остаётся довольно редким явлением и всегда привлекает пристальное внимание. Начиная с 2003 г., наша статистика случаев выявления *F. langsethiae* в зерне показывает, что на сегодняшний день к регионам с массовым распространением этого гриба относятся Северо-Западный (выявлен в шести

областях) и Центральный ФО (выявлен в восьми областях) (табл.).

Результаты мониторинга зараженности зерна урожая 2018 г. позволили выявить в Уральском ФО новые территории распространения *F. langsethiae*. Впервые, в Свердловской области из зерна овса из Алапаевского района и пшеницы из Белоярского района выделены штаммы *F. langsethiae*. Заражённость зерна овса составила 3%, а пшеницы – 1%.

Продолжение исследований видового состава грибов *Fusarium* в зерне урожая 2019 г. позволило впервые получить сведения о присутствии *F. langsethiae* на территории Республики Чечня, в Ростовской, Рязанской (заражённость

Таблица. Информация о встречаемости *F. langsethiae* в разных регионах России
 Table. Information of *F. langsethiae* occurrence in the different regions of Russia

Федеральный округ РФ	Область (районы)	Год первого выявления гриба	Зерновые культуры
Северо-Западный	Архангельская (Вельский)	2014	овёс
	Вологодская (Великоустюгский, Вологодский, Грязовецкий)	2008	овёс
	Калининградская	2005	овёс
	Ленинградская (Гатчинский, Волосовский, Ломоносовский, Лужский)	2003	овёс, пшеница, тритикале, ячмень
	Новгородская (Новгородский)	2008	овёс
Приволжский	Псковская (Великолукский, Псковский)	2008	овёс
	Кировская	2017	овёс
Центральный	Нижегородская (Сергачский)	2014	овёс
	Белгородская	2011	ячмень
	Воронежская (Аппинский, Бутурлиновский, Хохольский)	2013	оз. пшеница, ячмень
	Курская	2012	оз. пшеница, ячмень
	Липецкая (Лебедянский, Становлянский, Тербунский)	2013	оз. пшеница, ячмень
	Московская (Одинцовский)	2019	овёс
	Орловская	2007	ячмень
Рязанская	2019	ячмень	
Южный	Тамбовская (Староурьевский, Тамбовский)	2012	ячмень
	Краснодарский край (Белоглинский, Брюховецкий, Выселковский, Динской, Кавказский, Калининский, Каневской, Курганинский, Ленинградский, Приморско-Ахтарский, Тихорецкий, Успенский)	2011	оз. пшеница, ячмень
	Ростовская	2019	оз. пшеница
Северокавказский	Республика Чечня (Ачхой-Мартановский, Гудермесский, Ножай-Юртовский)	2019	пшеница
	Ставропольский край (Благодарненский, Георгиевский, Изобильненский, Кировский, Кочубеевский, Минераловодский, Новоалександровский, Шпаковский)	2011	оз. пшеница, оз. ячмень
Уральский	Тюменская (Ишимский, Заводоуковский)	2010	овёс, ячмень
	Свердловская (Алапаевский, Белоярский)	2018	овёс, пшеница
	Курганская (Куртамышский)	2019	ячмень

образцов пшеницы составила 1%) и Московской областях. В зерне овса из Одинцовского района Московской области было установлено максимальное значение зараженности этим видом в естественных условиях, выявленное в России – 14%. В образцах зерна, полученных из Уральского ФО, встречаемость и зараженность зерна *F. langsethiae* были выше, по сравнению с предыдущим годом исследований. Гриб выявлен в Тюменской области – в двух образцах ячменя и одном овса из Ишимского района, в зерне овса из Заводоуковского района, а также в зерне ячменя из соседней Курганской области. Зараженность зерна образцов варьировала от 1 до 7%.

Морфолого-культуральные признаки *F. langsethiae*, такие как слаборазвитый, неокрашенный воздушный мицелий, низкая скорость роста, затрудняют его выявление микологическим методом. Зачастую, под мицелием активно растущих на питательной среде грибов, имеющих окрашенный мицелий, например, *Alternaria* spp. и *Fusarium* spp., находящихся в зерне, могут скрываться медленно растущие колонии *F. langsethiae* (рис.). Зачастую исследователи не относят этот гриб к роду *Fusarium*, поскольку *F. langsethiae* не образует серповидные макроконидии, а только шаровидные и шаровидные с остроконечием микроконидии размерами 4.0–8.0 × 4.0–9.0 мкм, собранные в относительно устойчивые ложные головки.

Культуры *F. langsethiae* на КСА имеют порошистый, иногда клочковатый, белый, серовато-лиловых оттенков воздушный мицелий. Цвет реверса колоний может быть

непигментированным или варьировать от персикового до лилового. Различия по окраске реверса и обильности воздушного мицелия позволяют выделить четыре морфотипа *F. langsethiae*, частота встречаемости которых различается в различных регионах России (Gavrilova et al., 2017).

Идентификация всех новых штаммов *F. langsethiae* подтверждается ПЦР с набором видоспецифичных праймеров, что позволяет достоверно отличить их от штаммов другого морфологически сходного вида – *F. sibiricum*, выявленного и описанного в 2011 г., ареал которого в настоящее время ограничен преимущественно территорией Азии (Восточная Сибирь и Дальний Восток России, Иран, Китай). Применение этой методики позволило установить в 2019 г. единичную встречаемость *F. sibiricum* в зерне образца овса из Промышленновского района Кемеровской области. В настоящее время *F. langsethiae* в Сибирском ФО не обнаружен.

Ранее нами установлено, что токсинопродуцирующая способность на КСА штаммов *F. langsethiae* зависела от региона их происхождения: штаммы из Центрального ФО продуцировали в среднем больше Т-2 токсина (62.9±4.9 мкг/мл) и ДАС (0.44±0.04 мкг/мл), по сравнению со штаммами из Южного ФО – 39.4±5.9 мкг/мл и 0.17±0.04 мкг/мл, соответственно (Гаврилова, Гагкаева, 2015). Штамм MFG 500100 из Тюменской области отличался от штаммов европейского происхождения тем, что продуцировал значительно больше ДАС (2.04 мкг/мл), чем штаммы из Центрального и Южного ФО (от 0.04 до 0.5 мкг/мл).

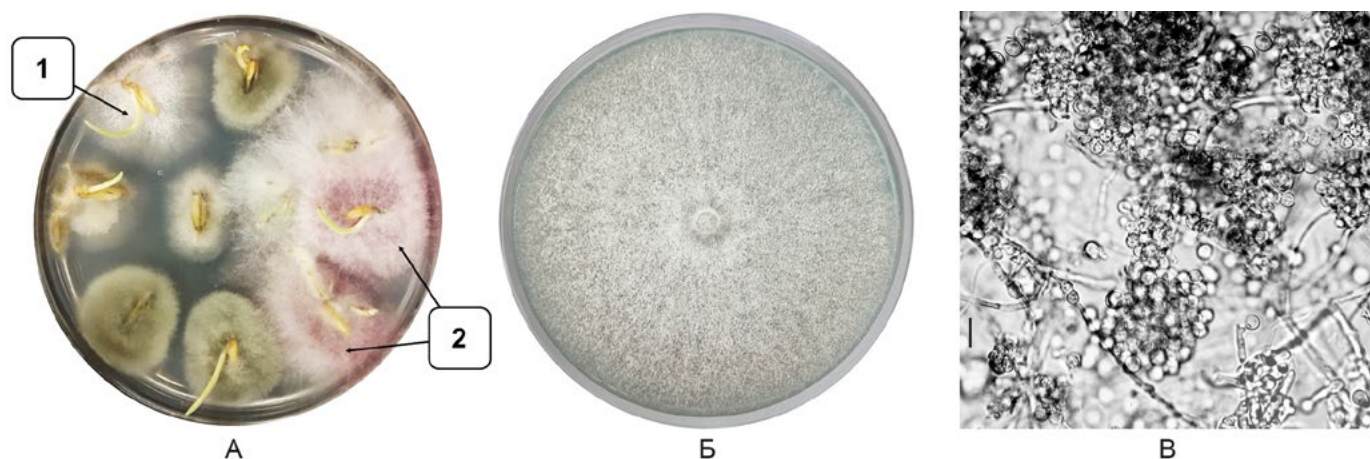


Рисунок. Культуры грибов: А – колонии разных видов грибов рода *Fusarium* (1 – *F. langsethiae*, 2 – *F. sporotrichioides*) из зерна голозёрного овса на КСА (7 суток, 24 °С); Б – моноспоровая культура *F. langsethiae* на КСА (14 суток, в темноте, 24 °С); В – спороношение гриба *F. langsethiae* на синтетической среде Ниренберг (14 суток, в темноте, 24 °С; масштабная линейка = 10 мкм).

Figure. Fungal cultures: А – the colony of different *Fusarium* fungi (1 – *F. langsethiae*, 2 – *F. sporotrichioides*) isolated from naked oats grain on potato-sucrose agar (PSA) (7 days, 24 °С); Б – single-spore *F. langsethiae* isolate on PSA (14 days, in dark, 24 °С); В – sporulation of *F. langsethiae* on the synthetic Nierenberg agar (14 days, in dark, 24 °С; scale = 10 µm)

Анализ способности штамма MFG 270611, выделенного из зерна овса из Свердловской области, образовывать токсичные вторичные метаболиты с помощью ВЭЖХ-МС/МС выявил в полученном экстракте 1660 мкг/кг Т-2 токсина, 7306 мкг/кг НТ-2 токсина и 30 мкг/кг ДАС (Gagkaeva et al., 2020).

Анализ контаминации микотоксинами образцов зерна, в которых был выявлен *F. langsethiae* показал, что в образцах зерна овса, имеющих относительно высокую (7%, Вологодская область) и максимальную выявленную зараженность (14%, Московская область), суммарное количество Т-2 и НТ-2 токсинов, выявленное с помощью ИФА, составило 186 и 1230 мкг/кг. В зерне образцов овса и пшеницы из Свердловской области с помощью ВЭЖХ-МС/МС определили содержание Т-2 токсина в количествах 18–63 мкг/кг и НТ-2 токсина – 110–148 мкг/кг. В РФ установлены предельно-допустимые количества в зерне только для Т-2 токсина – не более 100 мкг/кг (ТР ТС 015/2011, 2017), однако, как правило, этот микотоксин встречается совместно с его производным – НТ-2 токсином, количества которого во многих случаях превышают выявляемые количества Т-2 токсина. Доказано, что эти вторичные метаболиты

грибов обладают сходной токсичностью (Schuhmacher-Wolz et al., 2010) и, следовательно, в случае анализа только одного Т-2 токсина риски для потребителей загрязнённого зерна занижаются.

Опираясь на результаты, полученные аналитическими методами, можно утверждать, что *F. langsethiae*, несмотря на свои эндофитные свойства, обладает хорошей адаптивной способностью к условиям окружающей среды, что позволило грибу со времени его описания в 2004 г. быстро распространиться в климатически разнообразных странах и, по нашим данным, расширить свой ареал за пределы Европы. По всей видимости, основным путём проникновения *F. langsethiae* на новые территории является семенное зерно, которое приобретают в регионах массового распространения этого гриба. Зерно, заражённое *F. langsethiae*, как правило, всегда содержит высокие количества Т-2 и НТ-2 токсинов. Наблюдаемые в последнее время изменения границ ареалов токсинопродуцирующих грибов приводят к усилению опасности загрязнения возделываемых зерновых культур микотоксинами и требуют дальнейших исследований.

Авторы благодарят Н.Н. Гогину (ФНЦ «ВНИИП» РАН) за помощь в анализе микотоксинов методом ВЭЖХ-МС/МС.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 19-76-30005.

Библиографический список (References)

- Бучнева ГН (2019) Гриб *Fusarium langsethiae* на зерне пшеницы в Тамбовской области. *Colloquium-journal* 16–2(40):30–31
- Гаврилова ОП, Гагкаяева ТЮ, Буркин АА, Кононенко ГП (2009) Зараженность грибами рода *Fusarium* и контаминация микотоксинами зерна овса и ячменя на севере Нечерноземья. *Сельскохозяйственная биология* 6:89–93
- Гаврилова ОП, Гагкаяева ТЮ (2015) Влияние температуры и тебуконазола на рост и токсинообразование штаммов *Fusarium langsethiae* различного географического происхождения. *Агробиология* 12:76–82
- Гагкаяева ТЮ, Гаврилова ОП, Левитин ММ, Новожилов КВ (2011) Фузариоз зерновых культур. Приложение к журналу «Защита и карантин растений» 5:69–120
- Гагкаяева ТЮ, Ганнибал ФБ, Гаврилова ОП (2012) Зараженность зерна пшеницы грибами *Fusarium* и *Alternaria* на юге России в 2010 году. *Защита и карантин растений* 1:37–42
- Гагкаяева ТЮ, Гаврилова ОП (2013) Образование Т-2 токсина и диацетоксисцирпенола грибами рода *Fusarium* на различных питательных средах. *Агробиология* 8:96–101
- Гагкаяева ТЮ, Гаврилова ОП, Левитин ММ (2014) Биоразнообразии и ареалы основных токсинопродуцирующих грибов рода *Fusarium*. *Биосфера* 6(1):36–45

- Кононенко ГП, Буркин АА, Соболева НА, Зотова ЕВ (1999) Иммуноферментный метод определения Т-2 токсина в контаминированном зерне. *Прикладная биохимия и микробиология* 35(4):457–462
- Кононенко ГП, Буркин АА (2009) О контаминации фузариотоксинами зерна злаков, используемых на кормовые цели. *Сельскохозяйственная биология* 4:81–88
- Кононенко ГП, Буркин АА, Зотова ЕВ, Устюжанина МИ, Смирнов АМ (2018) Особенности контаминации зерна пшеницы и ячменя фузариотоксинами. *Российская сельскохозяйственная наука* 1:17–21
- Минаева ЛП, Короткевич ЮВ, Захарова ЛП, Седова ИБ, Шевелева СА (2013) Прямое определение продуцентов Т-2 и HT-2-микотоксинов грибов рода *Fusarium* в продовольственном зерне методом ПЦР (сообщение 2). *Вопросы питания* 82(4):48–54
- Технический регламент Таможенного союза 015/2011 «О безопасности зерна» с изменениями на 15 сентября 2017 г. Приложение №2.
- Шалак АВ (2009) К оценке масштаба голода 1946–1947 гг. *Историко-экономические исследования* 10(2):100–108
- Divon NH, Voe L, Tveit MMN, Klemsdal SS (2019) Infection pathways and penetration modes of *Fusarium langsethiae*. *Eur J Plant Pathol* 154:259–271. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-01653-3>
- Gagkaeva T, Gavrilova O, Levitin M, Kononenko G, Burkin A (2006) Characterization of distribution, cultural characters and T-2 toxin production of *F. sporotrichioides*, *F. poae* and *F. langsethiae* from Russia. Book Abstr. Eur. *Fusarium Seminar*, Wageningen (Netherlands). 49
- Gagkaeva TY, Orina AS, Gavrilova OP, Gogina NN (2020) Evidence of *Microdochium* fungi associated with cereal grains in Russia. *Microorganisms* 8(3):340. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030340>
- Gagkaeva T, Gavrilova O, Orina A, Lebedin Y, Shanin I et al (2019) Analysis of toxigenic *Fusarium* species associated with wheat grain from three regions of Russia: Volga, Ural, and West Siberia. *Toxins* 11(5):252. <https://doi.org/10.3390/toxins11050252>
- Gavrilova OP, Skritnik A, Gagkaeva TYu (2017) Identification and characterization of spontaneous auxotrophic mutants in *Fusarium langsethiae*. *Microorganisms* 5(2): E14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5020014>
- Hofgaard IS, Aamot HU, Torp T, Jestoi M, Lattanzio VMT et al (2016) Associations between *Fusarium* species and mycotoxins in oat and spring wheat from farmers' fields in Norway over a six-year period. *World Mycotoxin J* 9:365–378. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00556>
- Imathiu SM, Edwards SG, Ray RV, Back MA (2013) *Fusarium langsethiae* – a HT-2 and T-2 toxins producer that needs more attention. *J Phytopathol* 161:1–10. <https://doi.org/10.1111/jph.12036>
- Imathiu SM, Ray RV, Back M, Hare M, Edwards SG (2016) *In vitro* growth characteristics of *Fusarium langsethiae* isolates recovered from oats and wheat grain in the UK. *Acta Phytopathol et Entomol Hungarica* 51(2):159–169. <https://doi.org/10.1556/038.51.2016.2.1>
- Infantino A, Santori A, Aureli G, Belocchi A, De Felice S et al (2015) Occurrence of *Fusarium langsethiae* strains isolated from durum wheat in Italy. *J Phytopathol* 163:612–619. <https://doi.org/10.1111/jph.12361>
- Kokkonen M, Jestoi M, Laitila A (2012) Mycotoxin production of *Fusarium langsethiae* and *Fusarium sporotrichioides* on cereal-based substrates. *Mycotoxin Res* 28(1):25–35. <https://doi.org/10.1007/s12550-011-0113-8>
- Lukanowski A, Sadowski C (2008) *Fusarium langsethiae* on kernels of winter wheat in Poland – occurrence and mycotoxigenic abilities. *Cer Res Commun* 36(6):453–457
- Morcia C, Tumino G, Ghizzoni R, Badeck FW, Lattanzio VM et al (2016) Occurrence of *Fusarium langsethiae* and T-2 and HT-2 toxins in Italian malting barley. *Toxins* 8:247. <https://doi.org/10.3390/toxins8080247>
- Nazari L, Pattori E, Terzi V, Morcia C, Rossi V (2014) Influence of temperature on infection, growth, and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *F. sporotrichioides* in durum wheat. *Food Microbiol* 39:19–26. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.10.009>
- Parikka P, Hakala K, Tiilikkala K (2012) Expected shifts in *Fusarium* species' composition on cereal grain in Northern Europe due to climatic change. *Food Additives and Contaminants: Part A* 29(10):1543–1555. <https://doi.org/10.1080/19440049.2012.680613>
- Schöneberg T, Jenny E, Wettstein FE, Bucheli TD, Mascher F et al (2018) Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Swiss oats – impact of cropping factors. *Eur J Agronomy* 92:123–132. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.09.004>
- Schöneberg T, Kibler K, Wettstein FE, Bucheli TD, Forrer HR et al (2019) Influence of temperature, humidity duration and growth stage on the infection and mycotoxin production by *Fusarium langsethiae* and *Fusarium poae* in oats. *Plant Pathol* 68:173–184. <https://doi.org/10.1111/ppa.12922>
- Schuhmacher-Wolz U, Heine K, Schneider K (2010) Report on toxicity data on trichothecene mycotoxins HT-2 and T-2 toxins. *EFSA Supporting Publications* 7(7):EN–65. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2010.EN-65>
- Thrane U, Adler A, Clasen PE, Galvano F, Langseth W et al (2004) Diversity in metabolite production by *Fusarium langsethiae*, *Fusarium poae*, and *Fusarium sporotrichioides*. *Int J Food Microbiol* 95(3):257–266. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.005>
- Torp M, Langseth W (1999) Production of T-2 toxin by a *Fusarium* resembling *Fusarium poae*. *Mycopathol* 147:89–96. <https://doi.org/10.1023/A:1007060108935>
- Torp M, Nirenberg HI (2004) *Fusarium langsethiae* sp. nov. on cereals in Europe. *Int J Food Microbiol* 95:247–256. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.12.014>
- Ueno Y (1984) Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes. *Fundamental Appl Toxicol* 4(2):124–132. [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(84\)90144-1](https://doi.org/10.1016/0272-0590(84)90144-1)
- Yli-Mattila T, Ward TJ, O'Donnell K, Proctor RH, Burkin AA et al (2011) *Fusarium sibiricum* sp. nov, a novel type A trichothecene-producing *Fusarium* from northern Asia closely related to *F. sporotrichioides* and *F. langsethiae*. *Int J Food Microbiol* 2011, 147(1):58–68 <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.>
- Yli-Mattila T, Gavrilova O, Hussien T, Gagkaeva T (2015) Identification of the first *Fusarium sibiricum* isolate in Iran and *Fusarium langsethiae* isolate in Siberia by morphology and species-specific primers. *J Plant Pathol* 97(1):183–187. <http://dx.doi.org/10.4454/JPP.V97I1.017>

Translation of Russian References

- Buchneva GN (2019) The fungus *Fusarium langsethiae* on wheat grains in the Tambov region. *Colloquium-journal* 16-2(40):30–31 (In Russian)
- Gagkaeva TYu, Gavrilova OP, Levitin MM, Novozhilov KV (2011) *Fusarium* head blight of cereals. Appendix to the journal «Zashchita i karantin rasteniy» 5:69–120 (In Russian)
- Gagkaeva TYu, Gannibal PhB, Gavrilova OP (2012) Infestation of wheat grain with *Fusarium* и *Alternaria* fungi in the South of Russia in 2010. *Zashchita i karantin rasteniy* 1:37–42 (In Russian)
- Gagkaeva TYu, Gavrilova OP (2013) Production of T-2 toxin and diacetoxyscirpenol by *Fusarium* fungi on different nutrient media. *Agrokhimia* 8:96–101 (In Russian)
- Gagkaeva TYu, Gavrilova OP, Levitin MM (2014) Biodiversity and distribution of the main toxigenic *Fusarium* fungi. *Biosfera* 6(1):36–45 (In Russian)
- Gavrilova OP, Gagkaeva TYu, Burkin AA, Kononenko GP (2009) Mycological infection by *Fusarium* fungi and mycotoxins contamination of oats and barley grain samples in the North of Nechernozemye. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* 6:89–93 (In Russian)
- Gavrilova OP, Gagkaeva TYu (2015) The effects of temperature and tebuconazole on the growth and toxin production of *Fusarium langsethiae* strains from different geographical regions. *Agrokhimia* 12:76–82 (In Russian)
- Kononenko GP, Burkin AA, Soboleva NA, Zotova EV (1999) Enzyme immunoassay for determination of T-2 toxin in contaminated grain. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* 35(4):457–462 (In Russian)
- Kononenko GP, Burkin AA (2009) About fusariotoxins contamination of cereals used for fodder. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* 4:81–88 (In Russian)
- Kononenko GP, Burkin AA, Zotova EV, Ustyuzhanina MI, Smirnov AM (2018) Peculiarities of wheat and barley grain contamination with fusariotoxins. *Russian Agricultural Sciences* 1:17–21 (In Russian)
- Minaeva LP, Korotkevich YuV, Zakharova LP, Sedova IB, Sheveleva SA (2013) Direct detection of T-2 and HT-2 Mycotoxins producers of fungi the genus *Fusarium* in food grain by PCR (report 2). *Voprosy Pitaniia* 82(4):48–54 (In Russian)
- Shalak AV (2009) To assess the scale of the famine of 1946–1947. *Istoriko-ekonomicheskie issledovaniya* 10(2):100–08 (In Russian)
- Technical Regulations of the Customs Union 015/2011 «On grain safety» with the changes 2017 September 15. (In Russian)

Plant Protection News, 2020, 103(3), p. 201–206

OECD+WoS: 1.06+RQ (Mycology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13282>

Short communication

LATEST INFORMATION ON THE DISTRIBUTION OF *FUSARIUM LANGSETHIAE*, THE PRODUCER OF T-2 AND HT-2 TOXINS, IN RUSSIA

O.P. Gavrilova*, T.Yu. Gagkaeva

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

*corresponding author, e-mail: olgavrilova1@yandex.ru

The annual monitoring of grain contamination with *Fusarium* fungi and the identification of their species composition showed the widespread distribution of *F. langsethiae* producing dangerous T-2 and HT-2 toxins in the Northwestern and Central regions of Russia. Mycological analysis of grain samples harvested in 2018–2019 allowed revealing the new places of *F. langsethiae* distribution, including Urals. The top infection rate of the oats grain by *F. langsethiae* in 2019 reached 14%. The identification of *F. langsethiae* strains was supported by PCR with species-specific primers. The analysis of toxic metabolites in *F. langsethiae* by the combination of high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry revealed the high level of T-2 and HT-2 toxins. The considerable total amounts of T-2 and HT-2 toxins (165–1230 µg/kg) were found in the grain samples infected with this species. Further clarification of the geographical area of *F. langsethiae* and the study of its intraspecific diversity are needed to understand the distribution of this toxin-producing fungus.

Keywords: *Fusarium langsethiae*, identification, distribution, mycotoxins

Received: 29.04.2020

Accepted: 28.08.2020

IDENTIFICATION OF SUNFLOWER PATHOGENIC FUNGUS *PLENODOMUS LINDQUISTII* USING PCR WITH SPECIES-SPECIFIC OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS

M.M. Gomzhina*, Ph.B. Gannibal

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

*corresponding author; e-mail: gomzhina91@mail.ru

Plenodomus lindquistii causes Phoma black stem of sunflower which is the most common stem disease of this crop in Russia. The diagnostics of both field specimens and pure cultures of *P. lindquistii* is troublesome. Molecular methods involving the use of the PCR are rapid diagnostic express tests that can precisely identify and detect fungal species. The aim of this study was to develop species-specific oligonucleotide primers for selective amplification of *P. lindquistii* DNA. The primers LepIIF2/LepIIR2 were designed on the basis of ITS region analysis and showed stable amplification of the target fungus DNA with no cross-reaction with other fungal species. The primers are recommended for express detection of the causative agent of Phoma black stem of sunflower. This is the first PCR assay that could be used to rapidly reveal and identify this pathogen.

Keywords: molecular diagnostic, Phoma black stem, sunflower

Received: 06.05.2020

Accepted: 19.08.2020

Introduction

Plenodomus lindquistii (Frezzi) Gruyter, Aveskamp & Verkley (syn. *Leptosphaeria lindquistii* Frezzi, Revta, *Phoma macdonaldii* Boerema, *Phoma oleraceae* var. *helianthituberosi* Sacc.) causes Phoma black stem of sunflower (*Helianthus annuus* L.). This is the most common stem disease of sunflower in Russia and worldwide (McDonald, 1964; Boerema et al., 1981; Acimovic, 1984; Donald et al., 1987; Maric et al., 1988; Sackston, 1992; Chandreshekar, 1993; Peres, Lefol, 1996; Gulya et al., 1997). In Australia (Chandrashekar, 1993) and China (Wu et al., 2012) the Phoma stem canker causal agent, *P. lindquistii*, is of quarantine significance. In Russia this fungus is widespread in all sunflower producing regions, such as Krasnodar territory (Borodin, Kotlyarova 2006; Saukova et al., 2014), Tambov province (Vypritskaya et al., 2010), Volgograd province (Saukova et al., 2018), Belgorod province, Central Black Earth region, and North Caucasus (Yakutkin, 2001; 2005). Under favorable conditions the fungus can lead to yield losses up to 70%.

The diagnostics of *P. lindquistii* under the field conditions is rather difficult because Phoma black stem can be confused with Phomopsis stem canker (causal agents are *Diaporthe* spp.). Identification of *P. lindquistii* isolates is usually based on morphological criteria of asexual structures: pycnidia

and conidia, but it is often unreliable due to substantial morphological similarity of many related phoma-like species. Correct identification of *P. lindquistii* in pure culture is laborious, time consuming, and requires special conditions and different culture media.

Molecular methods based on PCR are rapid diagnostic express tests that can contribute to detection and precise identification of fungal species in vitro. Nuclear rDNAs particularly in the internal transcribed spacer (ITS) regions are good targets for phylogenetic analysis in fungi (Bruns et al. 1991). It was demonstrated that oligonucleotide specific primers targeting the ITS region selectively detect many agriculturally important fungi including sunflower pathogen *Macrophomina phaseolina* (Babu et al., 2007) and some Phoma-like fungi, e.g. *P. lingam* and *P. biglobosus* (Mahuku et al., 1996).

Currently there are no molecular techniques based on PCR for correct identification of *P. lindquistii* – the causal agent of Phoma black stem of sunflower. The aim of this study was to develop specific oligonucleotide primers and to subsequently evaluate their efficiency and specificity for identification and detection of *P. lindquistii*.

Materials and Methods

Fungal isolates. As a result of the extensive studies of fungal biodiversity on sunflower carried out in 2015–2019 in different geographical locations in Russia 177 *P. lindquistii* isolates were collected by authors from the surface of sterilized stems exhibiting typical symptoms of Phoma black stem. All isolates were stored in the collection of pure cultures of the All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR, St. Petersburg).

DNA extraction, PCR and sequencing. Mycelium was obtained from cultures, incubated on potato sugar agar (PSA) and macerated with 0.3 mm glass sand on a MM400 mixer mill (Retsch, Germany). Genomic DNA was then extracted according to a standard CTAB/chloroform method (Doyle, Doyle, 1990).

Four isolates, i.e. one from Lipetsk region (MF Ha15-001) and three from Krasnodar territory (MF Ha16-001, MF Ha16-004, and MF Ha16-005), were selected for sequencing of ITS region. The primers ITS1 and ITS4 (White et al., 1990) were used to amplify the ITS region. The amplification reactions had a total reaction volume of 25 µl which was composed of dNTPs (200 µM), each of the forward ITS1 and reverse ITS4 primers (0.5 µM), Taq DNA-polymerase (5 U/µl), 10× PCR buffer with Mg²⁺ and NH₄⁺ ions and total genomic DNA (approx. 1 ng). The PCR conditions were as follows: predenaturation of DNA at 95 °C for 5 min; 35 cycles of denaturation at 92 °C for 50 s, annealing at 55 °C, 40 s, and elongation at 72 °C for 75 s; followed by a final elongation step for 5 min at 72 °C.

Amplicons were purified according to the standard method with a DNA-binding silica matrix (Boyle, Lew, 1995). Visualization and concentration measurements of the purified PCR products were implemented by electrophoresis in 1% agarose gel stained with ethidium bromide and MassRuler 1000 bp as a marker of concentration.

Amplicons were sequenced by Sanger's method (1977) on ABIPrism 3500 (Applied Biosystems – Hitachi, Japan), with the Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, Foster City, USA), according to the manufacturer's instructions. All sequences were deposited in the GenBank with the following accession numbers: MK495985, MK495986, MK495987, and MK495988.

Development of specific oligonucleotide primers. Four sequences obtained during this study, reference sequence of the ex-type culture of *P. lindquistii* CBS 381.67 and sequences

of other fungi were aligned using the ClustalX 1.8 (Thompson et al., 1997). The regions, which were conserved among the isolates and specific for *P. lindquistii*, were selected to design species specific oligonucleotide primers. Three pairs of primers were designed using Primer3plus online software with default options. The parameters such as percentage of G+C content and absence of self-complementarity were analyzed by Primer3plus. Sequences, annealing temperature and size of product are listed in the Table. The theoretical specificity of the primers set was checked with the sequences from the other fungi in GenBank by the BLASTn analysis.

The PCR conditions were as follows: predenaturation of DNA at 94 °C for 2 min; 30 cycles of denaturation at 92 °C for 50 s, annealing at according temperature (Table) for 30 s, and elongation at 72 °C for 75 s; followed by a final elongation step for 5 min at 72 °C.

Table. New oligonucleotide primers for species-specific amplification of ITS locus in rDNA *Plenodomus lindquistii*

Primer pair	Primer name	Nucleotide sequence, 5'→3'	Annealing temperature, °C	Expected amplicon size, b.p.
1	LepliF	CTGGGTCTTTTGCTCCATGT	60.1	104
	LepliR	TTTTGTCCTATCGGCGGG	61.9	
2	LepliF2	TGCTCCATGTACCAGCTCA	58.9	178
	LepliR2	CGATGCCAGAACCAAGAGAT	60.2	
3	LepliF3	TCCATGTACCAGCTCACCTC	58.7	250
	LepliR3	TGTGCGTTCAAAGATTCGAT	59.3	

Specificity evaluation of oligonucleotide primers was carried out by PCR with DNA of eight *P. lindquistii* isolates (MF Ha16-001 – MF Ha16-008) as positive amplification control. As negative amplification control we used the DNA of the next 16 isolates representing various groups of fungi, including both ascomycetes and basidiomycetes, i.e. *Alternaria atra* (MF 150-011), *Armillaria* sp. (MF A1), *Ascochyta kamchatica* (MF 010-031), *Boeremia exigua* (MF 17-75), *Colletotrichum floriniae* (MF Vm17-043), *Diaporthe gulyae* (MF Ha17-042),

D. eres (MF Vm17-001), *Didymella glomerata* (MF 32.38.1), *D. pomorum* (MF 9.232.1), *Fusarium avenaceum* (MF 60101), *Ganoderma* sp. (MF G), *Plenodomus biglobosus* (MF 4.105), *P. lingam* (MF 4.34), *Paraphoma melnikiae* (MF 9.88), *Neopyrenochaeta acicola* (MF 52.5), *Stagonosporopsis inoxydabilis* (MF 010-020). The most specific primer pair was tested with all 177 *P. lindquistii* isolates from the VIZR pure culture collection.

Results and Discussion

The primers LepliF/LepliR failed to amplify ITS region of eight tested *P. lindquistii* isolates. Whereas primers LepliF2/LepliR2 and LepliF3/LepliR3 yielded single amplified product each of 250 and 180 bp respectively (Fig. 1). However, amplification with the primers LepliF3/LepliR3 generated the target product for six isolates out of eight. Amplification with primers LepliF2/LepliR2 was successful for all DNA samples (Fig. 1).

Both primer pairs, LepliF2/LepliR2 and LepliF3/LepliR3, were found to be specific for *P. lindquistii* as none of the other fungi tested could yield any amplification product under identical conditions of amplification (Fig. 2, 3).

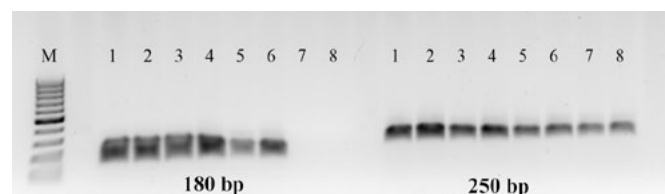


Figure 1. Test for primers LepliF3/LepliR3 (left) and LepliF2/LepliR2 (right) specificity for DNA of eight *Plenodomus lindquistii* isolates. M marks GeneRuler ladder 1000 bp.

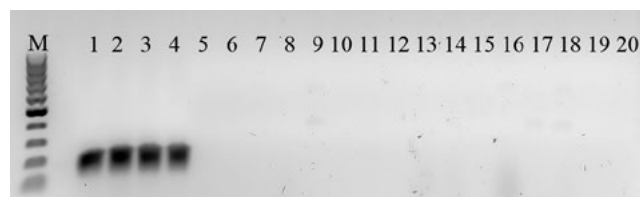


Figure 2. Test for LepliF2/LepliR2 primers specificity for DNA of *Plenodomus lindquistii* isolates (lanes 1–4) and isolates of other fungi (lanes 5–20; fungal species are listed in Material and Methods section.

M marks GeneRuler ladder 1000 bp.

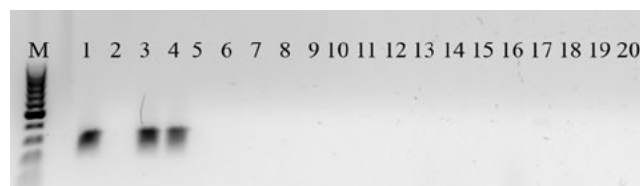


Figure 3. Test for LepliF3/LepliR3 primers specificity for DNA of *Plenodomus lindquistii* isolates (lanes 1–4) and isolates of other fungi (lanes 5–20; fungal species are listed in Material and Methods section.

M marks GeneRuler ladder 1000 bp.

The primer pair LepliF2/LepliR2 was preliminary verified as having the highest specificity for amplification of *P. lindquistii* ITS region. The PCR analysis has resulted in sustainable yield of single products of 250 bp for all 177 *P. lindquistii* isolates, collected from infected sunflower harvested in different years in various geographical locations in Russia

Thus, the use of LepliF2/LepliR2 primers resulted in more specific, reproducible and consistent amplification of rDNA of different *P. lindquistii* isolates than other two primer pairs. This is the first report on development of specific primers for the molecular identification and detection of *P. lindquistii*.

References

- Acimovic M (1984) Sunflower diseases in Europe, the United States and Australia. *Helia* 7:45–54
- Babu KB, Saxena AK, Srivastava AK, Arora DK (2007) Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species specific oligonucleotide primers and probe. *Mycologia* 99(6):797–803
- Boerema GH, van Kesteren HA, Loerakker WM (1981) Notes on *Phoma*. *Trans Br Mycol Soc* 77:61–74
- Borodin SG, Kotlyarova IA (2006) [Sunflower diseases in the Krasnodar territory]. *Bolezni i vrediteli maslichnykh kultur* 3–10 (In Russian)
- Boyle JS, Lew AM. (1995) An inexpensive alternative to glassmilk for DNA purification. *Trends Genet* 11(1):8
- Bruns TD, White TJ, Taylor JW (1991) Fungal molecular systematics. *Ann Rev Ecol Syst* 22:525–564
- Chandrashekar M (1993) Evaluation of Seedborne Quarantinable Diseases of Oilseeds: *Carthamus*, *Glycine*, *Helianthus*, *Linum* and *Ricinus*. Department of Primary Industries and Energy Bureau of Resource Sciences. A review commissioned by the Australian Quarantine and Inspection Service (AQIS). Canberra
- Donald PA, Venette JR, Gulya TJ (1987) Relationship between *Phoma macdonaldii* and premature death of sunflower in North Dakota. *Plant Disease* 71:466–468
- Doyle JJ, Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12:13–15.
- Gulya TJ, Rashid KY, Masirevic SM (1997) Sunflower diseases. In *Sunflower Technology and Production*. Madison, WI: American Society of Agronomy
- Mahuku GS, Hall R, Goodwin PH (1996) Co-infection and induction of systemic acquired resistance by weakly and highly virulent isolates of *Leptosphaeria maculans* in oilseed rape. *Physiol Mol Plant Pathol* 49:61–72
- Maric A, Camprag D, Masirevic S (1988) Bolesti I Stetocine suncokreta. Belgrad, Yugoslavia: Injihovosuzbijanje Nolit. 37–45
- McDonald WC (1964) *Phoma* black stem of sunflowers. *Phytopathology* 54:492–493
- Peres A, Lefol C (1996) *Phoma macdonaldii* Boerema: elements de biologie et mise au point d'une method de contamination artificielle en conditions controlees. Proc. 14th Intern. Sunfl. Conf. Beijing, China. 687–693
- Sackston WE (1992) On a treadmill: Breeding sunflowers for resistance to disease. *Annu Rev Phytopathol* 30:529–551
- Samson RA, Hoekstra ES, Frisva DJC, Filtenborg O (2000) Introduction to food and airborne fungi, 6th edition. Centraal bureau voor schimmel cultures, Utrecht
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977) DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74(12):5463–5467
- Saukova SL, Ivebor MV, Antonova TS, Araslanova NM (2014) [Causal agent of the *Phoma* black stem of sunflower in the Krasnodar territory]. *Maslichnye kultury: nauch-tech byul VNIIMK* 2(159–160):167–172 (In Russian)
- Saukova SL, Araslanova NM, Antonova TS, Ivebor MV (2018) [*Phoma* black stem (*Phoma macdonaldii* Boerema) in the sunflowers seeds]. *Maslichnye kultury: nauch-tech byul VNIIMK* 2(174):107–111 (In Russian)
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997) The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucl Acids Res* 24:4876–4882
- Vypritskaya AA, Putchnin AM, Kuznetsov AA, Mustafin II (2010) [Species list and harmfulness of mycobiota of sunflower seeds in the Tambov region]. *Maslichnye kultury: nauch-tech byul VNIIMK* 1(142–143):62–67 (In Russian)
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: MA Innis, DH Gelfand, JJ Sninsky & TJ White (eds.): *PCR Protocols: A guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, USA. 315–322
- Wu PS, Du HZ, Zhang XL, Luo F, Fang L (2012) Occurrence of *Phoma macdonaldii*, the causal agent of sunflower black stem disease, in sunflower Fields. *Plant disease* 96(11):1696
- Yakutkin VI (2001) [Sunflower diseases and their control in Russia]. *Zashchita i karantin rasteniy* 10:26–28 (In Russian)
- Yakutkin VI (2005) [Forecast and control of sunflower diseases in Russia in 2005]. *Zashchita i karantin rasteniy* 5:41 (In Russian)

Вестник защиты растений, 2020, 103(3), с. 207–210

OECD+WoS: 1.06+RQ (Mycology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-13331>

Краткое сообщение

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОГЕННОГО ДЛЯ ПОДСОЛНЕЧНИКА ГРИБА *PLENODOMUS LINDQUISTII* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР С ВИДОСПЕЦИФИЧНЫМИ ПРАЙМЕРАМИ

М.М. Гомжина*, Ф.Б. Ганнибал

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

* ответственный за переписку, e-mail: gomzhina91@mail.ru

Plenodomus lindquistii – возбудитель фомоза подсолнечника (чёрной стеблевой пятнистости) – заболевания, которое широко распространено в России во всех регионах, возделывающих эту культуру. Диагностика этого заболевания, как в полевых, так и в лабораторных условиях весьма затруднительна. Одним из методов молекулярной

диагностики фитопатогенных грибов является ПЦР с видоспецифичными праймерами. Такой метод позволяет проводить высокоточную детекцию и идентификацию целевых объектов. Цель данной работы заключалась в разработке видоспецифичных олигонуклеотидных праймеров, избирательно амплифицирующих ДНК гриба *P. lindquistii*. Праймеры LepIIF2/LepIIR2, разработанные на основе анализа ITS локуса, показали стабильную амплификацию ДНК целевого гриба при отсутствии кросс-реакции с другими видами грибов. Эти праймеры могут быть рекомендованы для проведения экспресс-диагностики возбудителя фомоза подсолнечника. Данная работа представляет собой первую разработку в области молекулярной экспресс-диагностики этого патогена.

Ключевые слова: молекулярная диагностика, фомоз, чёрная стеблевая пятнистость, подсолнечник

Поступила в редакцию: 06.05.2020

Принята к печати: 19.08.2020

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-4998>

Short communication

FUNGAL PATHOGENS OF TOMATO IN SOUTH-WESTERN RUSSIA (KRASNODAR TERRITORY)

E.M. Chudinova¹, T.A. Shkunkova¹, S.N. Elansky^{1,2*}

¹ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

² Moscow Lomonosov State University, Moscow, Russia

*corresponding author; e-mail: snelansky@gmail.com

During a study of fungal diseases of tomato in the South of Russia (Krasnodar Territory) 56 fungal isolates associated with tomato fruits were obtained. Most of them belonged to the species *Alternaria alternata*. *Alternaria solani*, *Fusarium equiseti*, *Phomopsis phaseoli*, *Chaetomium cochliodes*, *Clonostachys* sp., *Irpex lacteus*, *Colletotrichum coccodes* were also identified. Laboratory experiments revealed that *Clonostachys* sp., *C. cochliodes*, *P. phaseoli*, *I. lacteus*, and *F. equiseti* developed well on the fruit's slices. *Fusarium equiseti* was the only species that can penetrate the tomato through epidermis and infect entire fruit. The most effective fungicide against *F. equiseti* was difenoconazole ($EC_{50} = 0.08$ mg/L); penicuron was also effective ($EC_{50} = 32.5$ mg/L). Thiabendazole completely inhibited the growth of *F. equiseti* at the concentration 100 mg/L ($EC_{50} = 47$ mg/L).

Keywords: fungicides, tomato diseases, *Fusarium equiseti*, *Phomopsis phaseoli*, *Chaetomium cochliodes*, *Clonostachys* sp., *Irpex lacteus*, *Alternaria solani*

Received: 09.04.2020

Accepted: 22.07.2020

Introduction

Climatic conditions allow the cultivation of tomato in open ground in the southern regions of Russia. In the Krasnodar Territory (2018) farmers grow tomato in open fields on an area of 750 hectares; the total yield is about 9 thousand tons (ab-centre.ru, small private gardens and greenhouses are not accounted). When grown in open ground, tomatoes are severely affected by diseases and pests. The most common diseases in the south of Russia and adjacent countries are late blight (caused by *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary), early blight (*Alternaria* spp.), Septoria leaf spot (*Septoria lycopersici* Mart.), Fusarium rot (*Fusarium* sp.), root and stem rot (*Pythium ultimum* Trow), powdery mildew (*Erysiphe communis* (Wallr.) Schldt., *Oidium lycopersici* Cooke & Massee), white rot (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary),

gray mold (*Botrytis cinerea* Pers.), leaf mold (*Fulvia fulva* (Cooke) Cif. = *Cladosporium fulvum*), black tomato fruit rot (*Remotididymella destructiva* (Plowr.) Valenz.-Lopez, Cano, Crous, Guarro & Stchigel = *Phoma destructiva*) (Agaev et al., 2014).

In addition to the aforementioned widespread phytopathogenic microorganisms, new ones are currently appearing. They can cause diseases similar in symptoms. These microorganisms may differ in pathogenicity and resistance to fungicides. The use of effective fungicide preparations is the basis of high-quality tomato protection. That is impossible without the monitoring of tomato pathogens. The aim of our work was to analyze tomato fungal pathogens to search for new species atypical for Southern Russia.

Materials and Methods

The paper represents the results of a study of mycobiota associated with affected tomato fruits in two studied fields of the Krasnodar Territory (Slavyansk-na-Kubani district). There

were many plants with lesions caused by insects consequently colonized by bacteria and fungi, as well as plants with fungal, bacterial damage, mixed lesions, and lesions resulting from

sunburn. For the analysis of fungal pathogens, fruits with brown spots or whitish mycelium without punctures of the surface caused by insects were selected. In each case one fruit per plant was taken. Fruits were washed carefully, and surface was sterilized with 70% alcohol. Their slices were placed in moist chambers. Mycelium or spores were taken from alive tissue using needle under the microscope and placed on a Petri dish with wort agar mixed with penicillin. Further, axenic cultures of fungi were analyzed according to cultural-morphological characteristics. To confirm the results of cultural-morphological identification of species, sequencing of species-specific DNA region (ITS1-5.8S-ITS2, primers ITS5-ITS4, White et al., 1990) was performed for all isolates except small-spores *Alternaria*.

Pathogenicity tests were conducted on symptomless, detached green tomato fruits, with surface sterilized using ethanol (70%) and on slices of these fruits. Sterilized fruits were washed in three changes of distilled water. Agar plugs with fungal mycelium was placed in the center of the slice or on the surface of the fruit. Control fruit or slice was inoculated

with a small piece of agar only. The fruits were then incubated in a plastic container at 23 °C with wet paper placed on the bottom. Slices were incubated at the same temperature in Petri dishes on the glass lying on the wet paper. Tested fruits and slices were examined for mycelium development for 7 days after inoculation.

Estimation of fungicidal activity was carried out on Petri dishes with different concentrations of the studied fungicides. A block of colonized agar was placed in the center of Petri dish with hard oat medium of four gradually increasing concentrations of active compound: 0.1; 1.0; 10.0 and 100.0 mg/l. The medium without the fungicide was used as a control. Two perpendicular diameters of each colony were measured when diameter of control colony was 70–80% from radial size of Petri dish. After the measurements average diameter for each isolate was calculated. The effective inhibitory concentration EC_{50} , i.e. the concentration of a fungicide in the medium needed to reduce the radial growth of a colony by half in comparison to fungicide-free control, was determined.

Results and Discussion

During this study 56 fungal isolates were obtained. The vast majority (44 isolates) belonged to the species *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. Other species, such as *Alternaria solani* Sorauer, *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S. Hughes, *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc., *Phomopsis phaseoli* (Desm.) Sacc., *Chaetomium cochliodes* Palliser, *Clonostachys* sp. and *Irpex lacteus* (Fr.) Fr. were also isolated (table 1).

Table 1. Fungal species, isolated from tomato fruits

Species name	Number of strains	GenBank accession number
<i>Alternaria alternata</i>	44	Not tested
<i>Alternaria solani</i>	2	KY496637*
<i>Colletotrichum coccodes</i>	2	MT292616*
<i>Fusarium equiseti</i>	1	MT588081
<i>Phomopsis phaseoli</i>	2	MH412692*
<i>Chaetomium cochliodes</i>	3	MT279444*
<i>Clonostachys</i> sp.	1	MT588112
<i>Irpex lacteus</i>	1	MT276332

* – sequences of all strains were identical

Fusarium equiseti is widespread on tomato in Asian countries (Akbar et al., 2018), but its distribution in Russia has not been studied. *Phomopsis phaseoli* is one of the common pathogens of soybeans; this fungus was first discovered on tomato (Elansky et al., 2019). The basidiomycete *I. lacteus* is a wood white rot fungus, which has not been recorded as tomato pathogen. Soil saprotrophic fungi *Chaetomium cochliodes* Palliser and *Clonostachys* spp. form antagonistic relationship

with many soil microorganisms. One of *Chaetomium* species is used in the commercial preparation of Ketomium, which inhibits the growth of pathogens of many significant crops, including tomato (Soytong et al., 2001). Strains of the genus *Clonostachys* are widely used in biotechnological applications (Borges et al., 2015).

Some isolated fungal species had never been typical tomato pathogens in Russia. Since these fungi were isolated from affected tomato fruits, we evaluated their ability to develop on tomato fruits and slices in a moist chamber. According to our experiments, *Clonostachys* sp., *C. cochliodes*, *P. phaseoli*, and *I. lacteus* were not able to penetrate the tomato epidermis and infect fruits, but they developed well on fruits' cuttings. On day 7 after infection with *Clonostachys* sp., a lesion of 18±2 mm was formed on tomato slices (average diameter for 3 tested slices ± standard deviation). Inoculation with other fungal species was also resulted in lesions: 15±3 mm (*C. cochliodes*), 25±3 mm (*P. phaseoli*), 29±4 mm (*I. lacteus*). Apparently, these fungi can parasitize on tomato fruits when a crack occurs on their surface. *Fusarium equiseti* showed high aggressiveness in slices test, after 7 days the tomato slices were completely braided with its hyphae. *Fusarium equiseti* was the only tested pathogen that can infect the tomato fruits through the epidermis.

In the present study *F. equiseti* was first discovered on tomato in Russia. We tested its susceptibility to the following fungicides: difenoconazole (preparation Score), thiabendazole (Tecto) and pencycuron (Prestige) (table 2). The most effective fungicide was difenoconazole (EC_{50} = 0.08 mg/L). This drug

Table 2. The diameter of the colonies of *F. equiseti* in Petri dishes with medium containing fungicides

Fungicide	Colony diameter* at different active compound concentrations (mg/L)					EC_{50} **, mg/L
	0	0.1	1	10	100	
Difenoconazole	45±2	20.5±1	6.5±0.5	4±1	Not tested	0.08
Thiabendazole	47±2	Not tested	42±5	36±4	0	47
Pencycuron	47±2	Not tested	41±5	26±3	10±1	32.5

* – average diameter for 3 tested Petri plates (mm) ± standard deviation,

** EC_{50} – the concentration of fungicide (active ingredient) in the medium needed to reduce the radial growth of a colony by half in comparison to fungicide-free control.

is used for treatment of vegetative tomato plants against early blight. Thiabendazole is recommended for sterilization of storages. Our data showed that at a concentration of 100 mg/L it completely inhibits the growth of *F. equiseti*. Pencycuron is effective against *F. equiseti* ($EC_{50} = 32.5$ mg/L) and can be recommended for the treatment of tomato seeds (Catalog..., 2020).

Our research provided new information on the mycobiota of tomato fruits in Southern Russia, the main potato producing region of the country. Several new affected tomato fruits with fungal species were found. Detection of new pathogens showed the need for disease monitoring and optimization of disease control management.

The research is supported by the RUDN University Program 5-100.

References

- Agaev DT Bolezni tomata v fermerskikh hozyaistvakh [Farm Tomato Diseases] (2014) *Zaschita i karantin rasteniy* 9:38–33 (In Russian)
- Akbar A, Hussain S, Ullah K, Fahim M, Ali GS (2018) Detection, virulence and genetic diversity of *Fusarium* species infecting tomato in Northern Pakistan. *PLoS One* 13(9):e0203613. Doi: 10.1371/journal.pone.0203613
- Borges ÁV, Saraiva RM, Maffia LA (2015) Biocontrol of gray mold in tomato plants by *Clonostachys rosea*. *Trop. plant pathol.* 40:71–76. <https://doi.org/10.1007/s40858-015-0010-3>
- Catalog of pesticides and agrochemicals approved for usage on the territory of Russian Federation. Part 1. Pesticides. (2020). M.: Ministry of Agriculture. 283 p.
- Elansky SN, Shkunkova TA, Chudinova EM, Pakina EN, Kokaeva LY, Alexandrova AV, Krutyakov YA (2020) First report of *Phomopsis phaseoli* on tomato. *J Plant Pathol* 102:263–264. <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00403-6>
- Soytong K, Kanokmedhakul S, Kuknogviriyapa V, Isobe M (2001) Application of Chaetomium species (Ketomium) as a new broad-spectrum biological fungicide for plant disease control: A review article. *Fungal Diversity* 7:1–15
- White TJ, Bruns T, Lee SJWT, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc Guide Methods Appl* 18(1):315–322

Вестник защиты растений, 2020, 103(3), с. 210–212

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-3-4998>

Краткое сообщение

ГРИБНЫЕ ПАТОГЕНЫ ТОМАТА НА ЮГО-ЗАПАДЕ РОССИИ (КРАСНОДАРСКИЙ КРАЙ)

Е.М. Чудинова¹, Т.А. Шкункова¹, С.Н. Еланский^{1,2*}

¹ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

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

При изучении грибных болезней томата в Краснодарском крае из пораженных плодов были выделены в чистую культуру 56 штаммов грибов. При анализе видовой принадлежности коллекционных изолятов культурально-морфологическими и молекулярными методами оказалось, что большая их часть принадлежала виду *Alternaria alternata*. Также были идентифицированы *Alternaria solani*, *Fusarium equiseti*, *Phomopsis phaseoli*, *Chaetomium cochliodes*, *Clonostachys* sp., *Irpex lacteus*, *Colletotrichum coccodes*. Лабораторные эксперименты по заражению ломтиков плодов томата показали, что *Clonostachys* sp., *C. cochliodes*, *P. phaseoli*, *I. lacteus*, *F. equiseti* способны их успешно заражать. *F. equiseti* оказался единственным видом из исследованных, способным заражать неповрежденные плоды, проникая через эпидермис. Оценка восприимчивости *F. equiseti* к фунгицидам выявила, что наибольшей эффективностью отличался дифеноконазол ($EC_{50} = 0.08$ mg/l). Пенцикурон также показал хорошую эффективность ($EC_{50} = 32.5$ mg/l). Тиабендазол полностью ингибировал рост колонии *F. equiseti* при концентрации 100 mg/l ($EC_{50} = 47$ mg/l).

Ключевые слова: фунгициды, болезни томата, *Fusarium equiseti*, *Phomopsis phaseoli*, *Chaetomium cochliodes*, *Clonostachys* sp., *Irpex lacteus*, *Alternaria solani*

Поступила в редакцию: 09.04.2020

Принята к печати: 22.07.2020



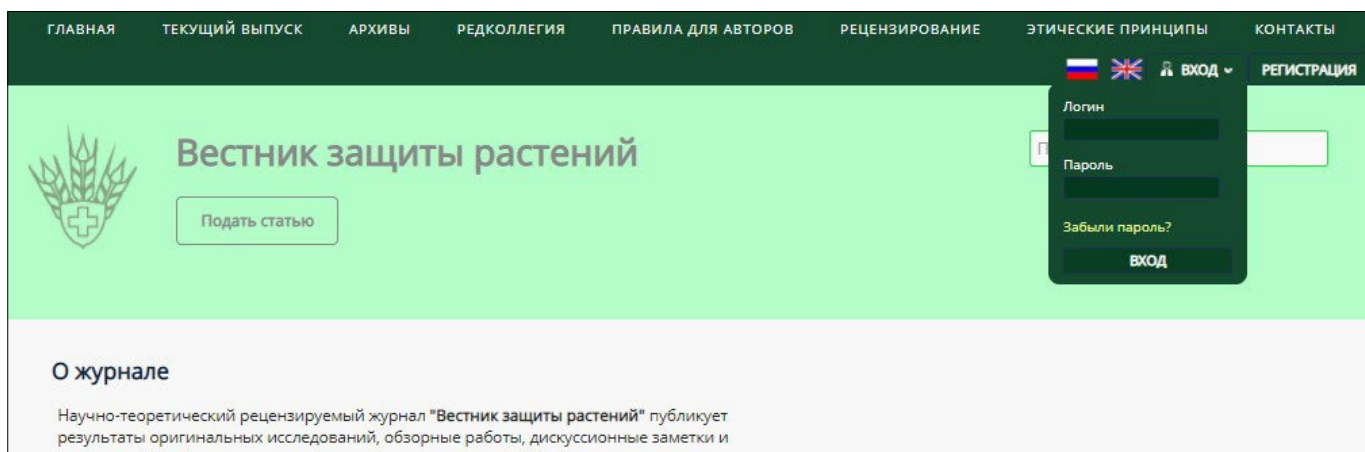
СИСТЕМА ЭЛЕКТРОННОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ЖУРНАЛА «ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ»

Редакция журнала «Вестник защиты растений» сообщает, что с 2020 года приём рукописей к рассмотрению, рецензирование и редактирование осуществляется через систему электронного редактирования, доступную на новом сайте журнала:

<http://plantprotect.ru>

Сайт журнала функционирует в англоязычной и русскоязычной версиях, при этом англоязычная версия установлена по умолчанию. Для переключения языка следует воспользоваться флажками выбора языка на верхней панели справа.

Для работы в системе автору, ответственному за переписку, следует создать личный кабинет с помощью опции «РЕГИСТРАЦИЯ», если личный кабинет уже создан, необходимо авторизоваться с помощью опции «ВХОД» на верхней панели справа.



При регистрации необходимо заполнить все обязательные поля, дать согласие на обработку и хранение персональных данных, пройти проверку «антиробот». Также можно указать готовность выступить в качестве рецензента и выразить согласие на получение новостей.

Регистрация Вы здесь: [Главная](#) | [Регистрация](#)

Профиль

Имя Отчество Фамилия
*Обязательно *Обязательно

Организация Страна
*Обязательно *Обязательно

Войти в систему

Адрес (E-mail) Имя пользователя
*Обязательно *Обязательно


Пароль Повторите пароль
*Обязательно *Обязательно

Я соглашаюсь на хранение и обработку персональных данных в соответствии с [Политикой конфиденциальности](#)

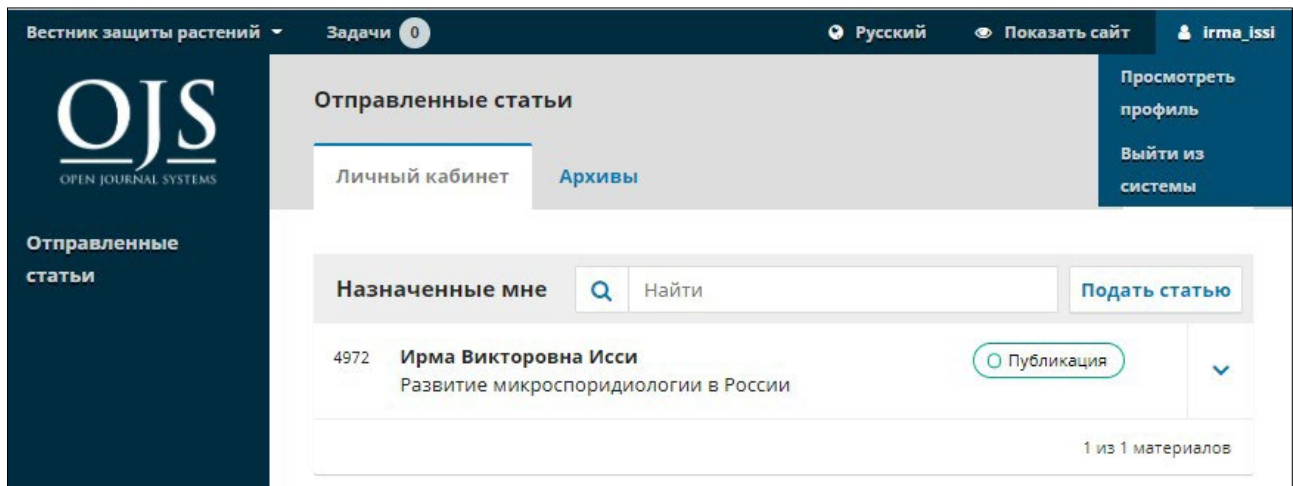
Я хочу получать уведомления и информацию о новых выпусках по электронной почте

Хотите ли вы рецензировать материалы для этого журнала?

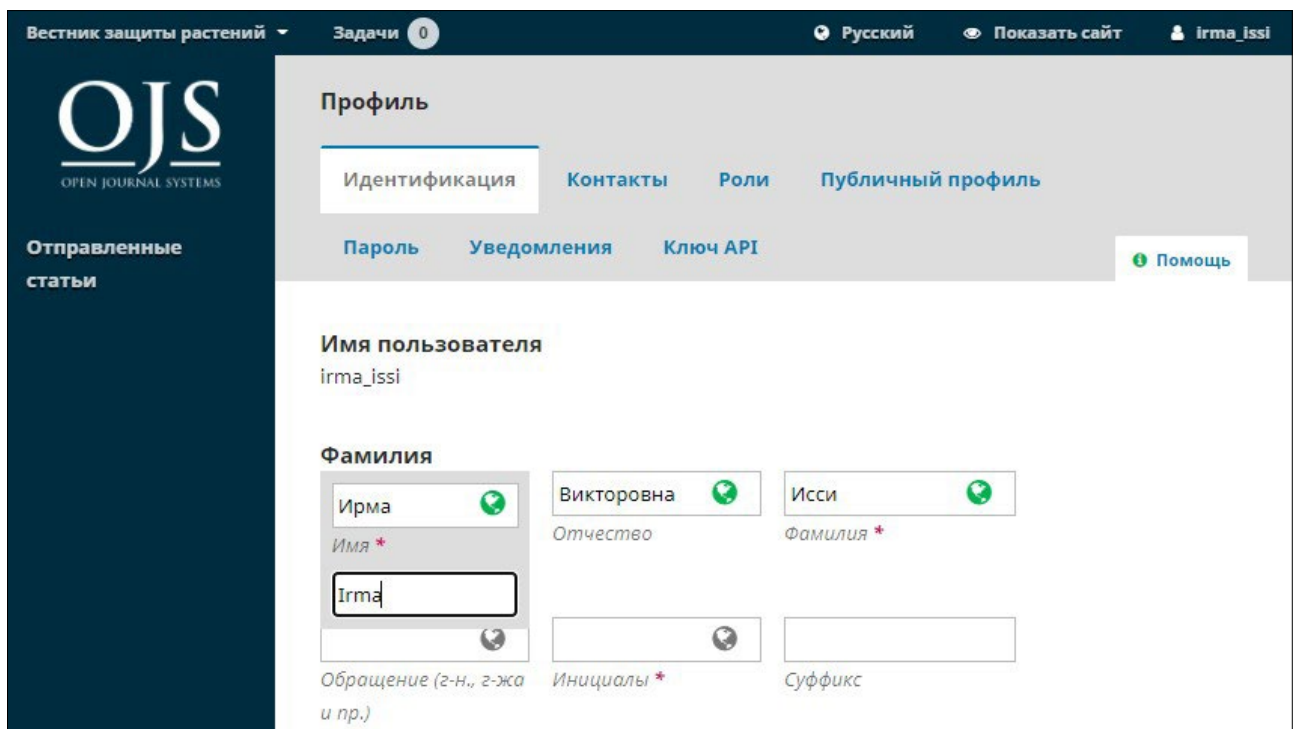
Да, запросить роль «Рецензент».

Я не робот 
Конфиденциальность - Условия использования

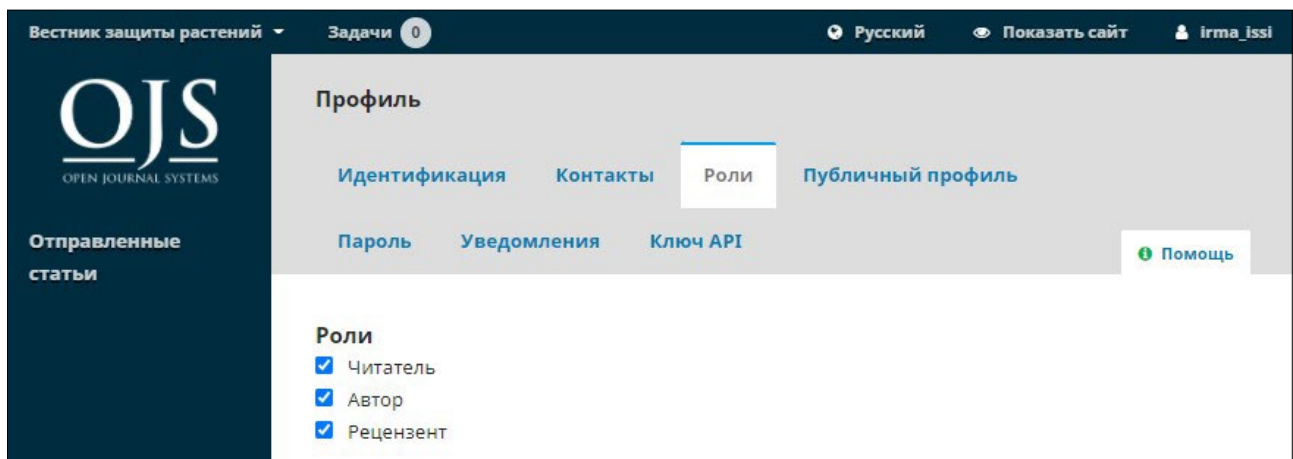
В личном кабинете доступна опция просмотра профиля с возможностью редактирования (ссылка появляется при наведении курсора на название учетной записи в верхнем правом углу), отображены поданные статьи, активна кнопка «подать статью».



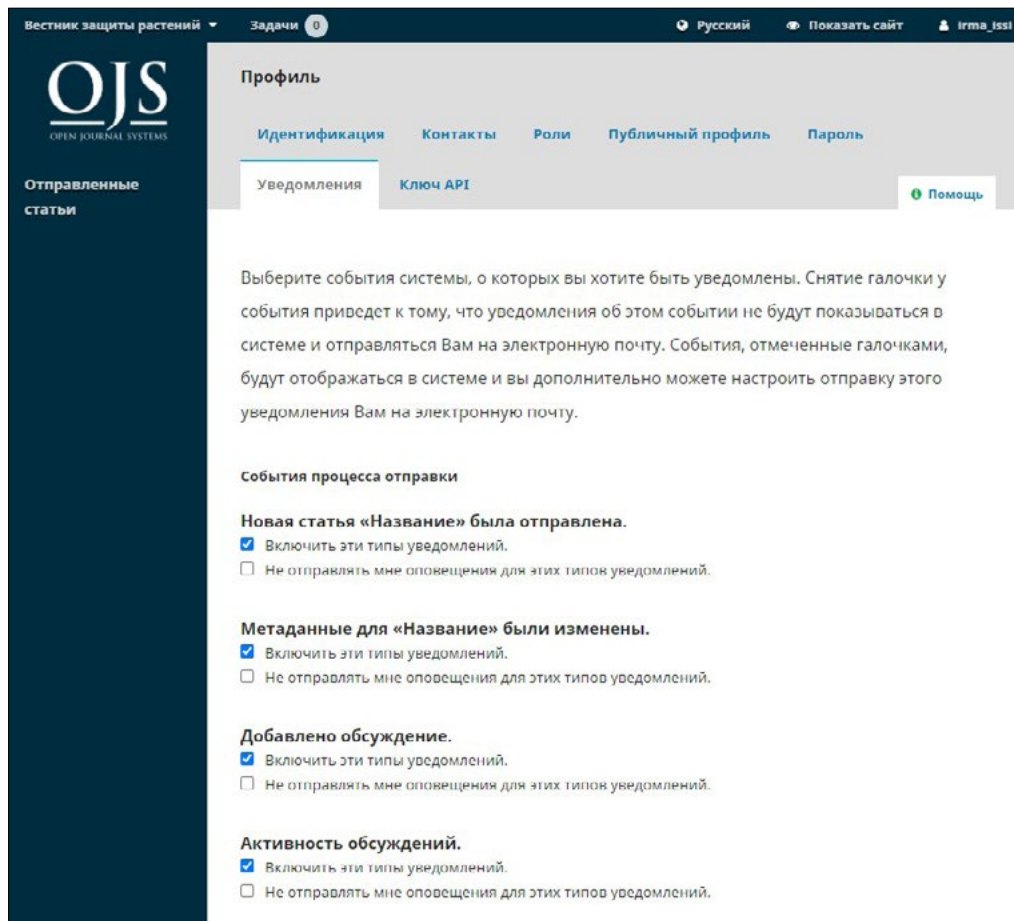
В профиле следует указать всю необходимую информацию, для удобства работы в двуязычном интерфейсе желательно указывать основные данные на русском и английском языках.



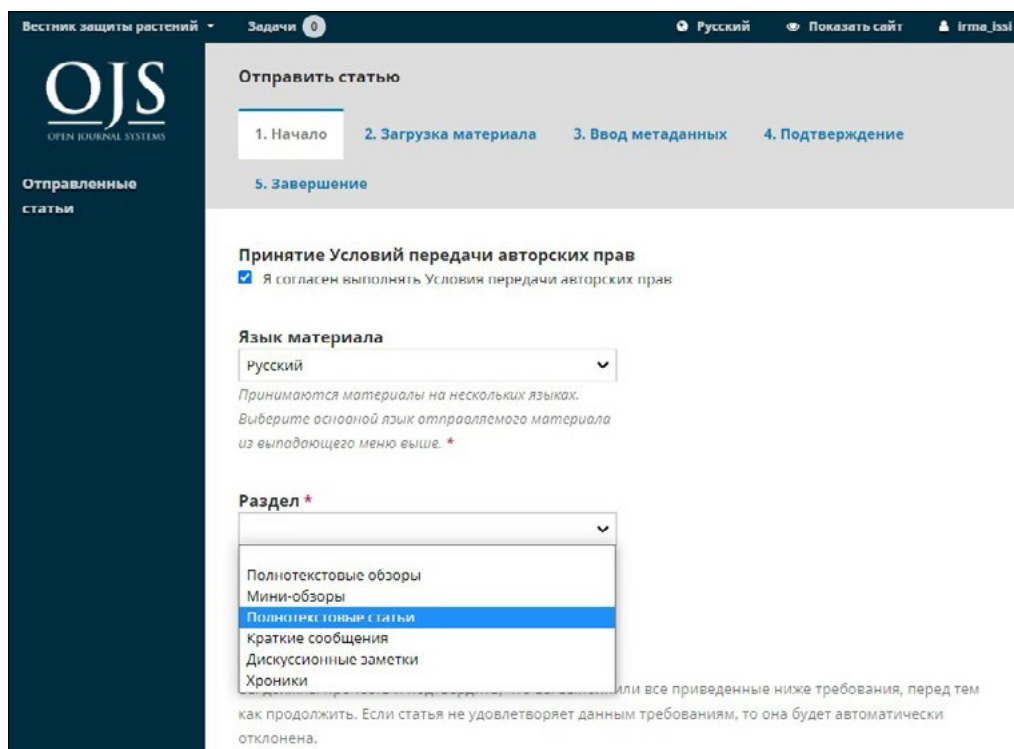
Минимальный набор данных раздела «Контакты» заполняется автоматически при создании учетной записи, можно добавить дополнительные сведения, изменить доступные роли,



настроить уведомления о прохождении различных этапов редакционной работы поданных рукописей, и т.п.



При подаче рукописи необходимо дать согласие на передачу авторских прав, выбрать раздел журнала в соответствии с типом статьи, подтвердить выполнение требований журнала, предъявляемых к рукописям, в соответствии с контрольным списком подготовки материала к отправке (см. далее), загрузить все требуемые файлы и заполнить минимально необходимый набор метаданных – название и аннотацию рукописи на двух языках. Автор, ответственный за переписку, добавляется по умолчанию, также можно указать остальных авторов работы. Более тщательное заполнение уточненных метаданных (см. далее) потребует после принятия рукописи к печати и утверждения на редколлегии, поскольку в процессе редакционной работы могут измениться название, аннотация, ключевые слова и т.п.



КОНТРОЛЬНЫЙ СПИСОК ПОДГОТОВКИ МАТЕРИАЛА К ОТПРАВКЕ

В качестве одного из этапов процесса отправки авторы должны проверить соответствие их материала всем следующим пунктам, материалы могут быть возвращены авторам, если они не соответствуют этим требованиям.

- Этот материал ранее не был опубликован, а также не был представлен для рассмотрения и публикации в другом журнале.
- Все авторы ознакомились с рукописью и согласны с её содержанием.
- Текст рукописи оригинален, все заимствования (цитирование чужих и собственных работ) оформлены корректно, с однозначным указанием границ цитируемого текста и источников цитирования.
- В качестве обязательных файлов приложены: а) полный текст рукописи; б) анонимный текст рукописи (удалены сведения об авторах и местах их работы в русской и английской версиях титульной страницы) для отправки на рецензирование; в) сведения об авторах (ФИО, место работы, e-mail всех авторов; телефон для связи с автором, ответственным за переписку); г) перечень 3-5 потенциальных рецензентов, не имеющих конфликта интересов (в том числе не имеющих общих мест работы с авторами статьи): ФИО, место работы, e-mail.
- Иллюстрации вставлены в рукописи (для указания местоположения), приложены файлы формата JPEG или TIFF (версии для цветной публикации онлайн и черно-белой печати), кроме того, для графиков, построенных средствами MS Office, приложены исходные файлы с данными и графиками (для верстки).
- Размер рукописи и аннотации соответствует рекомендациям (Приложение 1, Таблица 2 Требований к оформлению рукописей).
- Для обоснования актуальности и новизны исследования, сравнения полученных данных с мировым опытом процитировано достаточное количество современных публикаций в научных изданиях мирового уровня.
- Используемые методики и схемы экспериментов изложены достаточно подробно, чтобы их можно было воспроизвести в независимом исследовании.
- Описание результатов адекватно использованным методам исследований, а выводы соответствуют полученным результатам.
- Таблицы и рисунки информативны и соответствуют содержанию рукописи, заголовки, подписи и указатели адекватны.
- Рукопись оформлена в строгом соответствии с требованиями к структуре и формату либо выбрана опция «youг rareg - youг way» (YPUW, форматирование по требованиям журнала будет проведено после экспертизы по существу), что указано в разделе «Комментарии для редактора».

ЗАПОЛНЕНИЕ МЕТАДАННЫХ РУКОПИСИ, ПРИНЯТОЙ К ПЕЧАТИ

Заполнение уточненных метаданных рукописи рекомендуется проводить после получения уведомления о включении рукописи в план выпуска очередного номера, утвержденного на заседании редакционной коллегии журнала, используя самую последнюю версию рукописи, прошедшей финальную корректуру.

В отличие от основного текста рукописи, в метаданных название рукописи необходимо приводить заглавными буквами, для чего можно воспользоваться соответствующей функцией форматирования текста MS Office Word («ВСЕ ПРОПИСНЫЕ»).

Метаданные отправленного материала и публикации

Отправленный материал | Идентификаторы

Раздел *
Полнотекстовые статьи
Выберите подходящий раздел для этого материала (смотрите «Разделы и правила» на странице «[О журнале](#)».) *

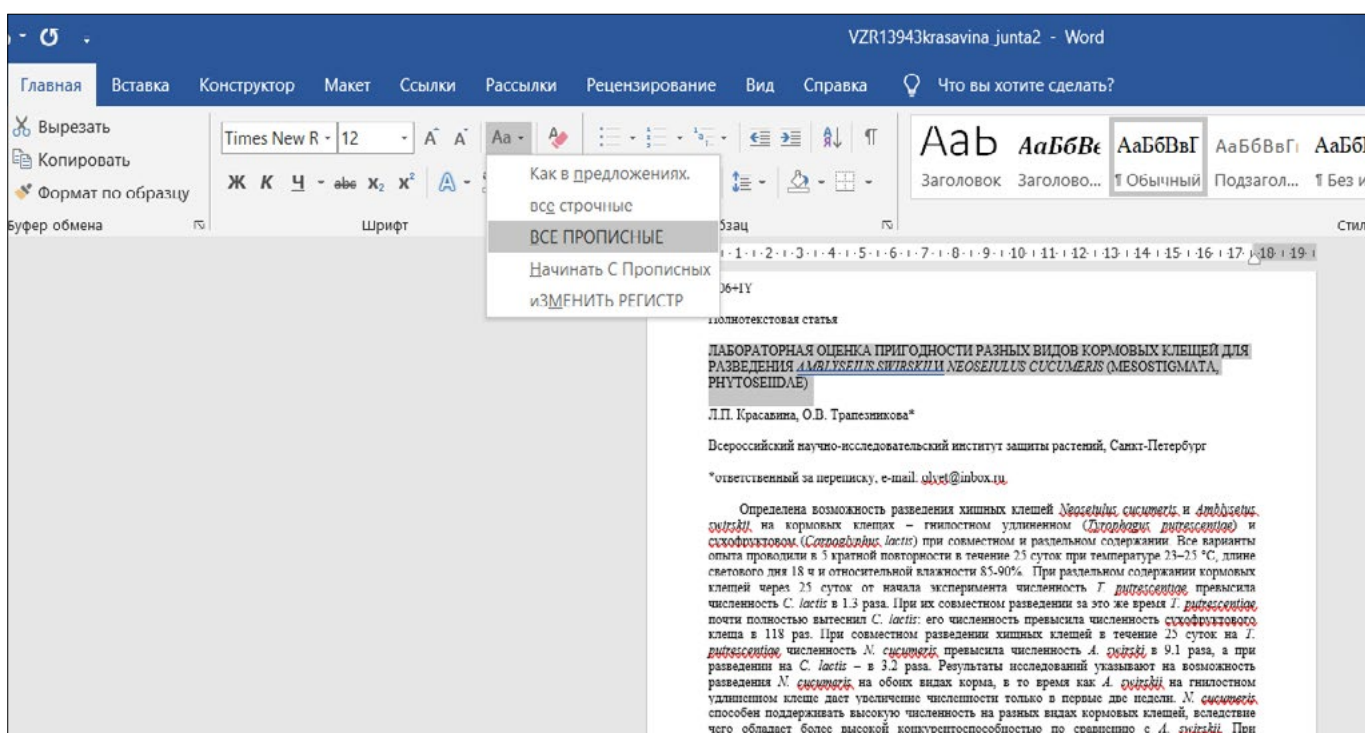
Язык материала
Русский
Принимаются материалы на нескольких языках. Выберите основной язык отправляемого материала из выпадающего меню выше. *

Название *
ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА РАЗНЫХ ВИДОВ КОРМОВЫХ КЛЕЩЕЙ ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ
LABORATORY ASSESSMENT OF SUITABILITY OF DIFFERENT SPECIES OF FODDER MITI
Аннотация должна содержать не более 272 слов.

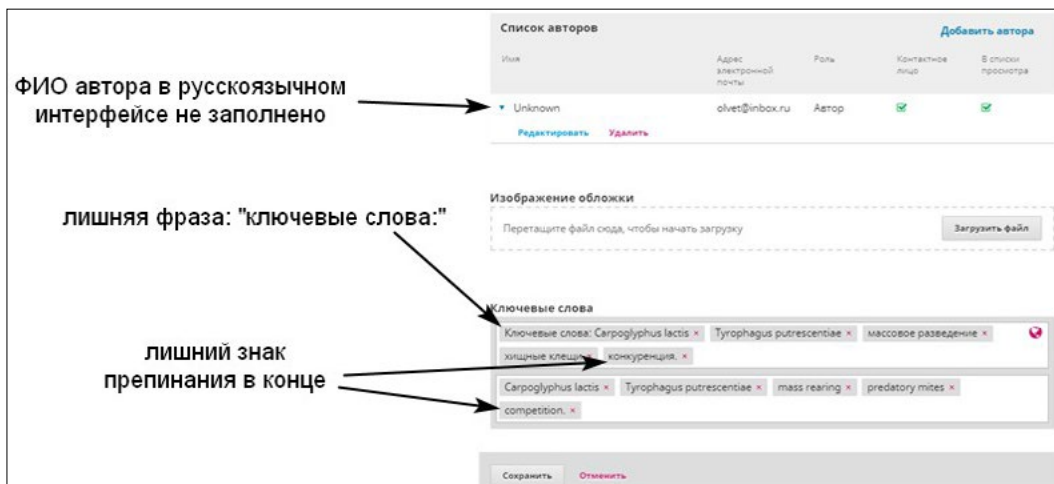
Words: 198

Список авторов Добавить автора

Имя	Адрес электронной почты	Роль	Контактное лицо	В списке публикации



Ключевые слова могут быть скопированы из финальной версии рукописи, алгоритм распознает словосочетания, разделённые запятыми, и преобразует их в соответствующие ключевые слова.



Авторы должны быть перечислены полностью в том же порядке, что и в рукописи; при этом инициалы заполняются автоматически. Место работы следует указывать в строгом соответствии с печатной версией статьи. Обязательно корректное указание актуального адреса электронной почты автора, ответственного за переписку; для остальных авторов можно указывать личные или рабочие адреса, а при отсутствии e-mail можно указать адрес автора, ответственного за переписку (поскольку данное поле относится к обязательным для заполнения).

ОФОРМЛЕНИЕ ЗАИМСТВОВАНИЙ В РУКОПИСЯХ НАУЧНЫХ СТАТЕЙ

Для корректного оформления заимствований в рукописях научных статей, принимаемых к печати в журнале «Вестник защиты растений», необходимо соблюдение следующих правил:

1. Оригинальный текст рукописи не должен совпадать с ранее опубликованными текстами (вне зависимости от авторства). При необходимости заимствования из ранее опубликованных научных работ и других открытых источников следует формулировать заново идеи, информацию и конкретные результаты (при этом новые формулировки не должны сводиться к перестановке местами членов предложения, замене отдельных слов синонимами и т.п.) сопровождать их соответствующими ссылками.

2. При дословном цитировании отдельных фраз их необходимо выделять кавычками и однозначно указывать источник ссылки.

3. Дословное воспроизведение более крупных фрагментов (абзацев) ранее опубликованного текста требует их выделения в тексте рукописи с указанием границ цитаты

и соответствующей ссылки. Необходимость такого цитирования может быть предметом обсуждения с членами редакции и редакционной коллегии.

4. Опубликованные ранее идеи и данные, в том числе принадлежащие авторам рассматриваемой статьи, могут быть использованы для обоснования целей и задач, актуальности и новизны, сравнительного анализа и обсуждения новых результатов исследований и т.п., но не могут служить основой результатов оригинальной рукописи. Исключения допускаются в отношении содержания диссертационных работ, успешно защищенных авторами рассматриваемой статьи, а также материалов, представленных авторами статьи в рамках научных мероприятий.

5. Некорректное оформление заимствований, наличие значительных фрагментов рукописи, совпадающих с ранее опубликованными текстами, тиражирование ранее опубликованной информации под видом оригинального исследования, нарушение авторских прав служат основанием для отклонения рукописи редакцией.

По всем вопросам просим обращаться в редакцию по адресу электронной почты vestnik@vizr.spb.ru

ELECTRONIC EDITING SYSTEM OF THE JOURNAL “PLANT PROTECTION NEWS”



The Editorial Office of the Journal “Plant Protection News” notifies that since 2020, manuscript submission, reviewing and editing is carried out through the electronic editing system available at the journal’s new website:

<http://plantprotect.ru>

The Journal website is presented in English and in Russian, the English version is set by default. To switch the language, use the language selection icons (flags) on the top right panel.

To handle the system, the corresponding author should create a personal account using the “REGISTER” option. If the personal account has already been created, the “LOGIN” option on the top right panel should be used.

To register, one has to fill in all the required fields, give consent to process and store personal data, and pass the “I’m not a robot” check. The readiness to act as a reviewer and consent to receive news may also be indicated.

In the personal account, the option to view the profile with the possibility of editing is available (the link appears when the cursor is hovered over the account name in the upper right corner), submitted articles are displayed, the “submit article” button is active.

In the profile, one should indicate all the necessary information; for the convenience of working in the bilingual interface, it is desirable to indicate the basic data both in Russian and English.

The minimal data set for the “Contacts” section is filled in automatically when creating an account, and the user may add additional information, change the available roles, set up notifications etc.

When submitting a manuscript, one has to agree to transfer the copyright, select the Journal’s section according to the article type, confirm that the manuscript is in good agreement with the Submission Preparation Checklist (see below) and upload all required files. The minimal required metadata should also be filled in including the title and annotation of the manuscript in two languages. The author responsible for the correspondence is added by default, other authors may also be indicated at this stage. A more comprehensive filling of the specified metadata (see below) will be required after the manuscript is accepted for publication and approved by the editorial board, since the title, abstract, keywords, etc. may change in the course of editorial processing.

SUBMISSION PREPARATION CHECKLIST

As part of the submission process, authors are required to check off their submission’s compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

- The submission has not been previously published, nor is it before another journal for consideration.
- All authors are familiar with the manuscript and agree with its content
- The manuscript text is original, all borrowed text (from own or others’ works) has clear indication of quotation borders and respective references
- Mandatory files are attached containing: (a) complete manuscript text; (b) anonymous manuscript text (devoid of information of authors and their affiliations in the title pages) for reviewing purposes; (c) author information (full names, affiliations and e-mails of all authors, contact phone number of the corresponding author); (d) list of 3-5 potential reviewers with no conflict of interests (such as the same affiliation as the authors’): full names, affiliations and e-mail

- Illustrative material is inserted in text (to show position) and attached as separate TIFF or JPEG files (versions for both color online publication and grayscale print). Diagrams and graphs are built in MS Office applications and initial files with data and diagrams are provided
- Manuscript and summary size correspond to the recommendations (Appendix 1, Table 2)
- The body of modern references of global scale is sufficient to substantiate goal and scientific novelty and to compare obtained data with previous research
- Methods, approaches and experimental schemes are detailed, clear and reproducible
- Results are adequate to the Methods while Discussion corresponds to the Results
- Tables and Figures are informative and correspond to the content while titles, legends and indications are adequate
- The manuscript is either properly structured and formatted or “your paper - your way” (YPYW, formatting according to the Manuscript Organization Instructions will be performed after the expertise) is chosen which is indicated in the “Comments for the Editor” field

HANDLING METADATA OF ACCEPTED PAPERS

It is recommended to fill in the specified metadata of the manuscript after receiving a notification that the paper is accepted and approved by the Editorial Board Council, using the latest version of the manuscript after final proofreading.

Opposed to the main document, the manuscript title in the metadata should be given in UPPER CASE. The keywords may be pasted from the final version of the manuscript, as the algorithm recognizes comma-separated phrases and converts them to the corresponding keywords. All the authors should

be listed in the same order as in the manuscript; while the initials are filled in automatically. The affiliation should be indicated in strict accordance with the printed version of the article. The correct indication of the current e-mail address of the corresponding author is mandatory. For other authors, any type of e-mail can be used, and if there's no e-mail for an author, the corresponding author's e-mail may be used (as this field is mandatory).

HANDLING OF NON-ORIGINAL DATA

Correct presentation of non-original material in manuscripts submitted to the journal "Plant Protection News" suggests strict adherence to the following rules:

1. The original text of the manuscript should not coincide with previously published texts (regardless of authorship). If it is necessary to borrow from previously published scientific works and other open sources, ideas, information and specific results should be formulated anew (which doesn't mean simple rewriting where sentence parts are changes, certain terms are replaced with synonyms, etc.) and accompanied with appropriate references.

2. Whenever cited, verbatim phrases should be labeled with quotation marks and the reference is to be clearly indicated.

3. Verbatim reproduction of larger fragments (paragraphs) of a previously published text, requires its separation from the original manuscript text with clear indication of the quotation boundaries and the corresponding

reference. The need for such citation can be a subject of discussion with members of the Editorial Board and Editorial Office.

4. Previously published ideas and data, including those belonging to the authors of the manuscript considered, may be used in order to justify goals and objectives, relevance and novelty, comparative analysis and discussion of new research results, etc., but cannot serve as the basis for the results of the original manuscript. Exceptions are allowed in relation to the authored content of successfully defended dissertations as well as materials presented during scientific events.

5. Incorrect borrowing, the presence of significant fragments of the manuscript that coincide with previously published texts, duplication of previously published information under the guise of original research, copyright infringement and similar issues serve as a ground to decline the manuscript by the editors.

Научное издание

Индекс 36189

Подписано к печати 22 сентября 2020 г.

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