

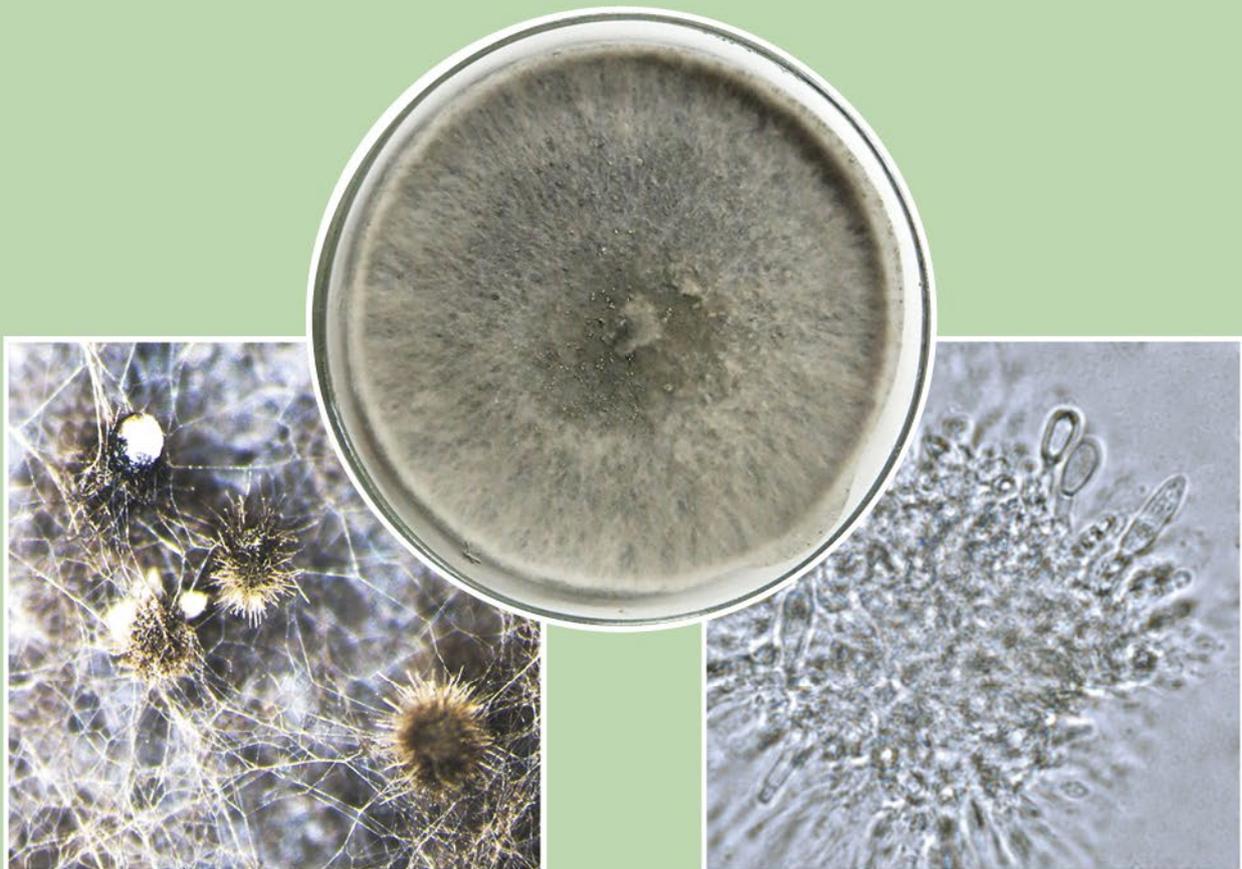


ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2021 ТОМ ВЫПУСК
 VOLUME 104 ISSUE 4



Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia

Для оформления обложки использованы изображения *Botryosphaeria sinensis*: культура на картофельно-сахарозной агаризованной среде, пикниды на поверхности колонии и конидиогенные клетки (© Гасич Е.Л., Орина А.С. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15142>, см. стр. 213-217 настоящего выпуска).

For the title page design, the images of *Botryosphaeria sinensis* were used: a colony on potato sugar agar, pycnidia on the colony surface and conidiogenous cells (© Gasich E.L., Orina A.S. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15142>, see page 213-217 of the current issue).

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

All-Russian Institute of Plant Protection

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

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2021 TOM 104 ВЫПУСК 4
 VOLUME ISSUE

Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia
2021

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
Технический секретарь: С.Г. Удалов
Корректор англоязычных текстов: А.В. Алёхин
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:**

1.5.14 – Энтомология (биологические науки),

1.5.18 – Микология (биологические науки),

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

4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные и биологические науки),

4.1.3 – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений (сельскохозяйственные и биологические науки),

4.1.4 – Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры (сельскохозяйственные
и биологические науки)

Индексируется в РИНЦ, CrossRef, ROAD и Sherpa/Romeo

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алёхин А., профессор, США

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

Белоусов И.А., кбн, ВИЗР

Белякова Н.А., кбн, 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

Игнатов А.Н., дбн, РУДН

Косман Е., профессор, Израиль

Каракотов С.Д., дхн, академик РАН,

ЗАО “Щелково Агрохим”

Кюссон М., PhD, Канада

Лаврищев А.В., дсxn, СПбГАУ

Лаптиева А.Б., дбн, ООО “ИЦЗР”

Левитин М.М., дбн, академик РАН, ВИЗР

Лунева Н.Н., кбн, ВИЗР

Лысов А.К., ктн, ВИЗР

Мавроди Д., профессор, США

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

Намятова А.А., кбн, ЗИН

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, академик РАН, ВИЛАР

Синев С.Ю., дбн, ЗИН

Соколова Ю.Я., дбн, США

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., Токарев Ю.С., Фролов А.Н.

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

Email: vestnik@vizr.spb.ru

<http://plantprotect.ru>



Содержимое данного выпуска распространяется на условиях Creative Commons Attribution License 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENT

Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews**Введение в молекулярную диагностику насекомых****А.С. Рябинин, Р.А. Быков, В.К. Лапшина, А.А. Маслакова, М.А. Деменкова, Ю.Ю. Илинский**

Introduction to Molecular Diagnostics of Insects

A.S. Ryabinin, R.A. Bykov, V.K. Lapshina, A.A. Maslakova, M.A. Demenkova, Y.Y. Ilinsky 184

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Пораженность картофеля вирусами в Республике Башкортостан и активность рибонуклеаз****Р.М. Хайруллин, Д.В. Гарифуллина, С.В. Веселова, Е.А. Черепанова, И.В. Максимов**

Potato infection with viruses in the Republic of Bashkortostan and ribonuclease activity in tubers

R.M. Khairullin, D.V. Garifullina, S.V. Veselova, E.A. Cherepanova, I.V. Maksimov 196

Эффективность защиты яровой пшеницы биопрепаратами и фунгицидами в лесостепи Приобья:**I. Первые результаты в экстремальных погодных условиях****Н.Г. Власенко, В.А. Павлюшин, О.И. Теплякова, О.В. Кулагин, Д.О. Морозов**

Protection of spring wheat with biopreparations and fungicides in the forest steppe of Priobye:

I. First results in extreme weather conditions

N.G. Vlasenko, V.A. Pavlyushin, O. I. Teplyakova, O.V. Kulagin, D.O. Morozov 202

Краткие сообщения / Short Communications***Botryosphaeria sinensis* – первая находка на люпине белом****Е.Л. Гасич, А.С. Орина**The first detection of *Botryosphaeria sinensis* on white lupine

E.L. Gasich, A.S. Orina 213

Вариабельность заселяемости сортов розы паутиным клещом *Tetranychus urticae* на фоне применения***Phytoseiulus persimilis* и акарицидов****В.В. Моор, А.И. Анисимов, Е.Г. Козлова**Variability of infestation of rose varieties by the spider mite *Tetranychus urticae* under conditions of application of *Phytoseiulus persimilis* or acaricides

V.V. Moor, A.I. Anisimov, E.G. Kozlova 218

Characterization of *Zymoseptoria tritici* populations in Belarus by morphologic and cultural features**N.A. Krupenko, I.N. Odintsova**Дифференциация популяций гриба *Zymoseptoria tritici* в Беларуси по морфолого-культуральным признакам

N.A. Krupen'ko, I.N. Odintsova 223

О журнале 226**About the Journal 227****Новые члены редколлегии журнала «Вестник защиты растений» 228****New members of the “Plant Protection News” Editorial Board. 228****Руководство для авторов 229****Контрольный список подготовки материала к отправке 234****Author Guidelines 235****Submission Preparation Checklist 237****Система электронного редактирования журнала «Вестник защиты растений». 238****Electronic Editing System of the Journal “Plant Protection News” 239****Рецензирование 240****Reviewing process 241****Этические принципы 243****Ethics 244****Вестник защиты растений в 2021 году 245****“Plant Protection News” in 2021 245****Содержание журнала "Вестник защиты растений" за 2021 год (том 104, выпуски 1–4)**

Plant Protection News, Contents of 2021 (volume 104, issues 1–4) 246

ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ДИАГНОСТИКУ НАСЕКОМЫХ**А.С. Рябинин*, Р.А. Быков, В.К. Лапшина, А.А. Маслакова, М.А. Деменкова, Ю.Ю. Илинский***Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск** ответственный за переписку, e-mail: art@bionet.nsc.ru

Насекомые, благодаря своей многочисленности и широкой распространенности, играют важную роль в биоценозах. Многие насекомые являются вредителями сельскохозяйственных культур. Эффективная борьба с насекомыми-вредителями возможна только при их правильной идентификации, что обычно решается морфологическими методами анализа. Молекулярно-генетические методы позволили расширить возможности исследователей в изучении многих вопросов биологии насекомых, и, в частности, их диагностики на любых стадиях жизненного цикла, с чем обычно не справляется традиционный подход. Данный обзор охватывает широкий спектр вопросов, связанных с молекулярно-генетическим анализом насекомых. В первом разделе обсуждаются способы фиксации и хранения материала, и их влияние на сохранность ДНК насекомых. Далее приводится общая информация по дизайну популяционных исследований, а именно определению объема выборки, необходимой для исследования. Большое внимание уделено рассмотрению различных схем выделения ДНК из насекомых, приводятся примеры как экспресс-методик, так и более тщательных протоколов для получения ДНК высокой степени очистки. Рассматриваются методы выделения ДНК, позволяющие сохранить целостность насекомых для дальнейших морфологических исследований. Подробно описываются методы проверки качества полученного генетического материала, что особенно важно для дальнейшего анализа путем полимеразной цепной реакции (ПЦР). В последнем разделе приводятся различные методы ПЦР-анализа ДНК и примеры их практического применения для решения различных фундаментальных и прикладных задач в исследованиях насекомых, например, в таксономическом определении образцов, определении пола особей, поиске различных патогенов и симбионтов, выяснении пищевых предпочтений и др.

Ключевые слова: ПЦР, насекомые, образец, ДНК, праймеры, секвенирование*Поступила в редакцию: 10.07.2021**Принята к печати: 15.12.2021*

Насекомые – важный компонент большинства наземных экосистем, играющий ключевую роль в их поддержании (Weisser, Siemann, 2008; Yang, Gratton, 2014). Многие насекомые выступают серьезными вредителями леса и сельскохозяйственных культур (Schabel, 2010). Особую опасность представляют инвазивные виды, которые способны наносить колоссальный урон на новых территориях. В настоящее время для изучения биологии и идентификации этих насекомых активно используются различные молекулярно-генетические методы, которые постоянно совершенствуются (Asghar et al., 2015). Это приводит к появлению большого количества различных протоколов как подготовки материала к исследованию, так и самого анализа ДНК. Достижения технологий секвенирования ДНК позволили исследователям проводить простые, быстрые и

экономически рентабельные исследования генетического материала.

В настоящее время существует большое количество обзоров, посвященных отдельным направлениям работы с энтомологическим материалом: от фиксации образцов и выделения ДНК (Post et al., 1993; Asghar et al., 2015; Moreau et al., 2013) до методов ПЦР и секвенирования (Jinbo et al., 2011; Jalali et al., 2015; Ghobari, Zamani, 2020; Siozios et al., 2020). Предлагаемый обзор охватывает широкий спектр вопросов, начиная от методов хранения и фиксации насекомых, выделения и оценки качества ДНК до молекулярно-генетических методов анализа и их приложения для решения фундаментальных и прикладных задач. Подобных работ в настоящее время крайне мало, особенно на русском языке.

Хранение и подготовка материала к экстракции ДНК

Материал, используемый в генетических исследованиях можно разделить на два типа: 1) собранный специально для анализа ДНК и 2) хранящийся в энтомологических коллекциях, то есть изначально экземпляры насекомых не планировали использовать для анализа ДНК (как правило экземпляры на булавках или приклеены). Способ хранения материала может влиять на его сохранность и, как следствие, успешность проведения исследования.

Ключевое условие для сохранения ДНК – быстрое обезвоживание образцов. В качестве альтернативного приема

применяют низкотемпературное хранение (Quicke et al., 1999; Mandrioli, 2008). На практике материал обезвоживают, высушивая на воздухе (суховоздушный метод), или водоотнимающим веществом, чаще всего этанолом (Post et al., 1993; Dillon et al., 1996; Mandrioli, 2008; Nakahama et al., 2019). Фиксация насекомых в этиловом спирте не всегда удобна, поскольку размер экземпляров и плотность хитинового покрова влияют на эффективность дегидратации спиртом (Quicke et al., 1999; Reiss et al., 1995; Mandrioli et al., 2006). Для крупных экземпляров оптимальное

решение может быть достигнуто путем нанесения надрезов/отверстий в покровах (Quicke et al., 1999) или инъекцией спирта в полость тела с помощью шприца. Здесь следует отметить, что добавляемые в пластиковую посуду пластификаторы могут переходить в этанол и отрицательно влиять на качество ДНК. Желательно хранить спирт в стеклянных или «проверенных» пластиковых емкостях, а также избегать низкокачественной лабораторной пластиковой тары от неизвестных производителей. Еще одним фиксатором, хорошо сохраняющим образцы для анализа, может служить ацетон (Fukatsu, 1999). Изначально его использовали (и используют) для сохранения натуральной окраски насекомого, но этот способ оказался удобным также и для фиксации ДНК. Для ряда других фиксирующих жидкостей (раствор Карнуа, хлороформ, метанол, пропанол, формалин) показана плохая способность сохранять целостность генетического материала в образцах (Post et al., 1993; Quicke et al., 1999; Mandrioli, 2008). Например, формалин приводит к сшивкам белков и ДНК, а также её фрагментации. В последнее десятилетие активно развиваются методические подходы на основе секвенирования следующего поколения (Next Generation Sequencing, NGS), позволяющие восстанавливать первичную структуру ДНК образцов, фиксированных в формалине (Haile et al., 2019).

В качестве фиксатора может использоваться раствор DESS (ДМСО, ЭДТА, NaCl), который успешно протестирован на нематодах (Yoder et al., 2006) и насекомых (Dodge et al., 2017). Фиксированные особи сохраняли структурные особенности, важные для морфологического анализа, оставаясь пригодными для амплификации ДНК в течение нескольких месяцев при комнатной температуре. Фактически, обработка DESS представляет собой альтернативу фиксации этанолом.

Для консервации ДНК образцы могут быть и просто высушены на воздухе. Например, в энтомологических коллекциях материал часто хранится именно в сухом

состоянии на ватных слоях (маграсики), в бумажных конвертах, на энтомологических булавках (Голуб и др., 2021). В сухих условиях окружающей среды такой материал хорошо хранится и при комнатной температуре, а если влажность высокая, то он сохраняет пригодность лишь ограниченное время (Quicke et al., 1999; Nakahama et al., 2019). При «суховоздушном» способе фиксации наилучший результат по сохранению ДНК получается с мелкими насекомыми, которые быстро теряют воду, в то время как крупные насекомые сохнут хуже, что может привести к плесневению и гниению (Quicke et al., 1999).

Метод криоконсервации в жидком азоте с последующим хранением при -70 – -80 °С относится к одним из наиболее надежных для сохранения целостности морфологических структур и генетического материала образца. Однако этот подход требует специального оборудования и редко доступен в полевых условиях. Здесь необходимо учитывать, что многократное размораживание/замораживание негативно сказывается на качестве материала (Quicke et al., 1999).

Альтернативой криоконсервации для особо ценных образцов могут служить различные коммерческие реагенты, например, Allprotect Tissue Reagent (Qiagen) или RNAlater (Ambion), позволяющие без использования жидкого азота и сухого льда фиксировать ДНК образцов до 1 суток при 37 °С, до 7 суток при комнатной температуре, до 4 недель при 2 – 8 °С или неограниченно при -20 или -80 °С (Gorokhova, 2005; Nagy, 2010; Peña-Llopis, Brugarolas, 2013; Silva et al., 2021). Важно, что повторная разморозка/заморозка образца не нарушает сохранность ДНК, однако морфологические структуры могут пострадать.

В зависимости от того, каким способом зафиксирован материал для исследования, выбирается методика дальнейшего анализа, в частности, определяется протокол выделения ДНК. Также необходимо определить, какой объем материала будет достаточен для проведения исследования.

Объем выборки для анализа

Если необходимо проанализировать качественный признак образца, например, установить видовую принадлежность штрих-кодированием (баркодинг) (Hebert et al., 2003), то для анализа вполне достаточно одной особи. Однако, сравнение популяций по частотам аллелей и наличию симбионтов, определение частот встречаемости признака, инфицированности патогенными микроорганизмами и другие количественные оценки требуют анализа выборок определённого объема. Размер выборки зависит от поставленных перед исследователем целей и задач, что хорошо известно из учебников по биометрии. Неосновательно большой объем выборки приводит к увеличению себестоимости и трудозатрат, а слишком малая выборка не обладает достаточной разрешающей способностью выявления исследуемого признака или установления значимых различий между сравниваемыми группами. Если при исследовании выборки признак выявлен с некоторой частотой, то доверительный интервал покажет, в каком диапазоне может находиться истинное значение признака в генеральной совокупности (Wilson, 1927; Clopper, Pearson, 1934; Wald, Wolfowitz, 1939; Agresti, Coull, 1998; Гржибовский, 2008). Например, признак не был найден ни у одной из 10 особей, собранных в популяции. Для этого значения

доверительный интервал с уровнем достоверности 95% составляет 0–30%. То есть нельзя утверждать, что этого признака в данной популяции (генеральной выборке) нет, но можно говорить, этот признак «либо отсутствует, либо не превышает 30%». С увеличением объема выборки на порядок границы интервала также сужаются на порядок: для 100 особей – 0–30%, для 1000 – 0–0.3%. Если признак найден в 10% случаев, то доверительный интервал для выборок меняется следующим образом: для 10 образцов – 0.25–44.0%, для 100 – 4.9–17.6%, для 1000 – 8.2–12.0%.

При поиске признака в больших выборках образцы можно объединять в пулы (от английского pool – общий фонд, объединение). Такой прием может значительно сократить трудозатраты, поскольку, при обнаружении признака в одном из исследуемых пулов, достаточно провести индивидуальный анализ образцов, входящих в его состав, исключив из дальнейшего анализа отрицательные пулы. Однако зачастую для организмов малой размерности, образцы объединяются в пулы еще до выделения ДНК. Это не позволяет провести последующий индивидуальный анализ образцов, но отметим, что существуют методы расчета частоты признака и определения доверительного интервала (Gu et al., 2003; Ebert et al., 2010). Например,

если выборка, состоящая из 100 особей, разделена на 20 пулов по 5 особей в каждом, и признак выявлен только в двух пулах, то разброс оценки уровня признака в популяции составит 0.2–17.6%. Этот результат получен на основе доверительных интервалов, как если бы мы имели дело с выборкой индивидуальных образцов (то есть крайние значения доверительных интервалов для результатов 2% и 10%). Для более строгой оценки результатов анализа пулов, особенно если размер пулов варьирует, читатель может обратиться к специальной литературе (Bhattacharyya et al., 1979; Walter et al., 1980; Gu et al., 2003; Ebert et al., 2010). Стоит учитывать в дизайне исследования, что использование пулов может мешать получению релевантного результата при секвенировании ДНК, поскольку генетический материал может оказаться неоднородным.

Экстракция ДНК

В современной научной литературе описано множество различных методик экстракции ДНК из членистоногих, которые можно разделить на три категории. Первая группа методов подразумевает разрушение образца, выделение и последующую очистку ДНК. Здесь используются различные химические реагенты, процедура работы относительно других подходов длительна и трудоемка, а в ходе очистки происходят большие потери ДНК. Однако качество такой ДНК наиболее высоко и ее можно длительно (годами) хранить (Hajibabaei et al., 2005). Эти методы универсальны по отношению к образцам разного типа хранения, а также могут использоваться для свежесобранного материала. Ко второй группе относятся методы, подразумевающие разрушение образца и экстракцию ДНК в раствор, но без проведения какой-либо очистки. Преимущество этого подхода – сокращение потерь материала и экономия времени, однако обычно это не подразумевает длительного хранения ДНК. Эти методики могут быть использованы в полевых условиях для анализа свежесобранного материала без дальнейшего его хранения, а также для экспресс-проверок материала. Третья группа методов – «высвобождение» ДНК (DNA release), где выделение происходит без разрушения образца (Hunter et al., 2008; Lawrence et al., 2014; Asghar et al., 2015). Количество получаемой ДНК здесь низкое, но важно, что можно сохранить материал для морфологического анализа. Эти методы актуальны при работе с коллекционными и музейными образцами, в частности, при проведении штрих-кодирования образцов коллекции.

В рамках первой группы методов часто прибегают к «высаливанию» (salting out) – методике, основанной на том, что при высокой ионной силе белки выпадают в осадок, а ДНК остается в растворе и затем осаждается спиртом (Aljanabi, Martinez, 1997). В качестве примера можно привести следующие компоненты и порядок процесса выделения и очистки ДНК. Образец гомогенизируют в буфере, содержащем NaCl, ЭДТА для связывания двухвалентных катионов и ингибирования нуклеаз, Трис, поддерживающий буферные свойства, а также детергент, разрушающий мембраны и связывающийся с белками (SDS, СТАВ, DEPS и др.). Конечные концентрации компонентов в экстрагирующем буфере могут заметно варьировать, что зависит от того, происходит ли высаливание во время экстракции или после (Liu et al., 2000; Rivero et

al., 2006; Lagisz et al., 2010a; Ilinsky, 2013; Tian, Yu, 2013; Nguyen et al. 2017; Yudina et al., 2019; Wang, Wang, 2012; Asghar et al., 2015; Быков и др., 2020). Гомогенат инкубируют обычно при температурах от 37°C до 60°C, при этом чем ниже температура, тем дольше инкубация, хотя и здесь бывают вариации (Lagisz et al., 2010a; Vykov et al., 2020). Для длительно хранившегося материала желательно добавлять в экстрагирующий буфер протеиназу К. После экстракции ДНК высаливают, либо, если белки уже осадили, можно провести фенол-хлороформную или только хлороформную очистку (Liu et al., 2000; Rivero et al., 2006; Asghar et al., 2015; Hosseininia et al., 2019). Далее проводят осаждение ДНК, обычно этанолом или изопропанолом, и растворяют в воде или в ТЕ-буфере. Отметим, что существует большое количество коммерческих наборов, применяемых для выделения ДНК из членистоногих, например, prepGEM (MicroGEM International PLC), Gentra Puregene Kit (QIAGEN), DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) и другие (Hajibabaei et al., 2005; Castalanelli et al., 2010; Asghar et al., 2015; Ball, Armstrong, 2014; Nguyen et al., 2017).

Примеры второй и третьей группы методов, подразумевающих выделение ДНК без её очистки, в литературе часто связаны с ключевым словом «прямая ПЦР» (direct PCR). Ярким примером такого рода протоколов служит двухминутная пробоподготовка образца в PBS-буфере для последующего штрих-кодирования (Thongjued et al., 2019). Часто, в том числе и нашей группой, используется STE-буфер (Pace et al., 1977; Li et al., 2011; Wang, Wang, 2012; Hosseininia et al., 2019; Williams et al., 2021). В данном случае после гомогенизации в буфере, содержащем только NaCl, Трис-НСl и ЭДТА (с опциональным добавлением протеиназы К), и инкубации при 37°C в течение 30 мин раствор может быть использован для ПЦР или помещен на длительное хранение при -20°C (Hosseininia et al., 2019). Используют ионообменную смолу Chelex® 100 в разных вариантах методики (Wang, Wang, 2012; Asghar et al., 2015; Miura et al., 2017). Общая схема заключается в гомогенизации образцов в 5–20% водной суспензии смолы Chelex® 100 с добавлением протеиназы К и инкубации при 65°C в течение часа (Wang, Wang, 2012), после чего раствор можно использовать для ПЦР.

Пример получения ДНК без физического разрушения экземпляра насекомого – обработка ультразвуком образца,

помещенного в пробирку с водой (Hunter et al., 2008). Еще один метод, позволяющий сохранить целостность образца, включает в себя длительную (16–20 часов) инкубацию насекомого в пробирке с буфером, содержащим SDS, CaCl₂ и NaCl, ДТТ, Трис и протеиназу К (Gilbert et al., 2007). В этом случае ДНК требует очистки, поскольку SDS ингибирует ПЦР, но сам экземпляр насекомого дегидратируют в абсолютном этаноле и возвращают в коллекцию. Отмечается, что успешное применение прямой ПЦР затрудняется для насекомых, имеющих сильно склеротизированные покровы или большое количество экзокринных желез (Wong et al., 2014).

Кроме использования целых экземпляров членистоногих, успешно выделяют ДНК из отдельных частей насекомого. Зачастую удобны в работе ноги, поскольку содержат

много мышечной ткани, нет компонентов пищеварительной системы, они быстро высыхают, что позволяет сохранить ДНК хорошего качества. Также используют экзувий, крылья, остатки оболочки яиц после выхода личинок и т.д. (Gregory, Rinderer, 2004; Dhananjeyan et al., 2010; Nguyen et al., 2017; Yumoto et al., 2021). Самый сложный из перечисленных здесь объектов – экзувий, поскольку шкурки имеют внеклеточное происхождение и несут на своей поверхности лишь небольшое количество эпителиальных клеток, а значит содержат крайне мало ДНК. Это обстоятельство требует оптимизации протокола, и Kranzfelder с соавт. (2017) пришли к выводу, что наилучшее решение – это использование некоторых коммерческих наборов выделения ДНК, тогда как обычные экстрагирующие буферы и протоколы малоэффективны.

Проверка качества выделения ДНК

Перед проведением ПЦР-анализа необходимо убедиться в том, что количество и качество выделенной ДНК достаточны для успешного проведения реакции. Есть три основных подхода: 1) ПЦР с универсальными праймерами к генам насекомых, который, в случае положительного результата, позволяет перейти к анализу, заложенному в дизайне исследования; 2) спектрофотометрический анализ, который позволяет оценить количество и чистоту образца ДНК; 3) электрофорез геномной ДНК для оценки количества и фрагментированности ДНК.

Первый подход, ПЦР с универсальными праймерами, может быть также включен в исследовательскую задачу. Например, если в дизайне исследования заложено проведение штрих-кодирования, то ампликон баркодирующего

района гена *COI* (субъединица I митохондриальной цитохром с-оксидазы), полученный с универсальных праймеров в ходе тестирования образца, может быть использован для секвенирования. Универсальные праймеры, часто используемые в исследованиях насекомых, представлены в Таблице 1. Важно учитывать, что при работе с объектами из разных отрядов насекомых зачастую требуется оптимизация температуры отжига универсальных праймеров. Кроме того, необходимо отметить, что, несмотря на заявленную «универсальность», праймеры могут оказаться неподходящими к отдельным группам беспозвоночных. В этом случае есть смысл ознакомиться с работами, где проводили модификацию праймеров, например Geller et al (2013).

Таблица 1. Последовательности используемых универсальных праймеров на гены насекомых для постановки ПЦР

Лocus, наименование праймера, (направление)	5'-3' последовательность праймера, (источник)	Размер ампликона, п.н.	t отжига*, °C
<i>COI</i> , C1-J-1718, (прямой)	GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC (Simon et al., 1994)	590 (в паре с HCO2198)	55
<i>COI</i> , LCO1490 (прямой)	GGTCAACAATCATAAAGATATTGG (Vrijenhoek, 1994)	710	48–59*
<i>COI</i> , HCO2198 (обратный)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA (Vrijenhoek, 1994)		
<i>28S rRNA</i> , 28SF1 (прямой)	TACCGTGAGGGAAAGTTGAAA (Choudhury, Werren, 2006)	456	54–55
<i>28S rRNA</i> , 28SR1 (обратный)	AGACTCCTTGGTCCGTGTTT (Choudhury, Werren, 2006)		

* оптимальная температура отжига может варьировать в зависимости от объекта исследования.

Table 1. Sequences of universal primers for detecting insect genes using PCR

Locus, primer name (direction)	5'-3' primer sequence (source)	Amplicon size, bp	Annealing t, °C
<i>COI</i> , C1-J-1718 (forward)	GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC (Simon et al., 1994)	590 (в паре с HCO2198)	55
<i>COI</i> , LCO1490 (forward)	GGTCAACAATCATAAAGATATTGG (Vrijenhoek, 1994)	710	48–59*
<i>COI</i> , HCO2198 (reverse)	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA (Vrijenhoek, 1994)		
<i>28S rRNA</i> , 28SF1 (forward)	TACCGTGAGGGAAAGTTGAAA (Choudhury, Werren, 2006)	456	54–55
<i>28S rRNA</i> , 28SR1 (reverse)	AGACTCCTTGGTCCGTGTTT (Choudhury, Werren, 2006)		

* Optimal annealing temperature may vary depending on objects of investigation.

Если яркость свечения ампликона на агарозном геле слабая или сигнал вовсе отсутствует, желательно убедиться, что ДНК не была потеряна в процессе очистки. С другой стороны, высокие концентрации ДНК (>1мкг/мкл) могут ингибировать ПЦР или будут приводить к образованию неспецифических продуктов. В этом случае рекомендуется разведение ДНК до меньших концентраций (20–100 нг/мкл). При этом также произойдет разбавление возможных ингибиторов реакции и увеличится показатель чистоты ДНК. Так, в схеме выделения ДНК без последующей очистки из листоблошки *Bactericera cockerelli* – переносчика бактерий, вызывающих заболевание «зебра» у картофеля (*zebra chip*), авторы обнаружили, что для успешной амплификации получаемый раствор ДНК надо разбавлять в 100 раз (Levy et al., 2013).

Для определения концентрации ДНК в образце можно воспользоваться методом спектрофотометрии, который позволяет провести количественную оценку содержания ДНК в образце, а также определить чистоту выделенной ДНК. Важно, что для измерения требуется малое количество материала (1–2 мкл). О присутствии посторонних примесей свидетельствует соотношение показателей поглощения длин волн на 260 нм, 280 нм ($A_{260/280}$), и 230 нм ($A_{260/230}$). Считается, что оптимальный диапазон значений составляет 1.8–2.0 для $A_{260/280}$ и 2.3–2.4 для $A_{260/230}$ (Armbrecht, 2013; Koetsier, Cantor, 2019). Более низкие значения $A_{260/280}$ указывают на присутствие белков и фенолов, более высокие – на присутствие РНК. Показатель $A_{260/230}$ более чувствителен к посторонним веществам (Armbrecht, 2013; Koetsier, Cantor, 2019), и указывает на присутствие в образце хаотропных солей, ЭДТА, а также детергентов Тритон-Х100, Твин-20, некоторых белков и фенолов.

Еще один метод проверки качества ДНК – электрофорез в 0.5–1.0% агарозном геле. По электрофоретическому профилю геномной ДНК можно оценить как относительную концентрацию ДНК в пробе, сравнивая со свечением дорожки маркера молекулярных масс или контроля с заранее известной концентрации, так и ее целостность: представлен ли мажорный компонент высокомолекулярной фракцией или значительное количество ДНК фрагментировано. Присутствие «шмеров» (размазанные нечеткие полосы ДНК, от английской *smear* – мазок, размазывать) свидетельствует о ее разрушении, а степень фрагментации можно определить по положению шмера относительно

маркера. Если фракция шмера тяжелее уровня маркера 2 т.п.н, то амплификация небольшого целевого продукта, скорее всего, пройдет успешно (Lin, 2012). Рекомендуемые значения концентрации агарозы в геле для разделения ДНК считаются следующими: 0.5% для 1.0–30.0 т.п.н.; 0.75% – 0.8–12.0 т.п.н.; 1.0% – 0.5–10.0 т.п.н. (Поляничко, 2007). Однако, обычно для геномного электрофореза мы используем 0.7%-ный гель, так как при более низкой плотности увеличивается вероятность его механического повреждения, во избежание чего необходимо дополнительно делать подложку из геля с более высокой концентрацией агарозы. Недостатки этого метода заключаются в больших затратах времени и расхода ДНК (5–20 мкл) и в необходимости использования образцов с высокой концентрацией ДНК.

Если при отсутствии амплификации качество и количество ДНК по результатам спектрофотометрии и/или геномного электрофореза удовлетворительны, следует проверить условия ПЦР, изменить набор праймеров, провести переосаждение ДНК. Увеличение объема реакционной смеси, как правило, хорошо сказывается на результате ПЦР, однако при работе с большими выборками это не экономично. Как было указано выше, если концентрации ДНК высокие, то следует разбавить образец в 10, 100, а иногда и в 1000 раз. Если исследователь подозревает присутствие в образце ингибиторов ПЦР, то это можно проверить, повторив ПЦР со смесью ДНК проблемного образца и ДНК положительного контроля в соотношении объемов 9 (проблемный образец): 1 (контроль) и 1:1 (с учетом концентрации ДНК). Если продукт не нарабатался ни в одном из этих вариантов, можно заключить, что в образце содержатся ингибиторы ПЦР. Следовательно, необходимо развести образец, провести переосаждение, очистку с использованием коммерческого набора либо повторную экстракцию ДНК (возможно, другим методом). Если продукт не синтезировался при разведении 9:1, но есть при разведении 1:1, значит, в образце присутствуют ингибиторы, эффективность которых снижается при его разведении. В этом случае для проблемной ДНК можно подобрать разведение, при котором ПЦР пройдет успешно. Если продукт получен в обоих разведениях, то здесь, вероятно, проблема заключается в неоптимальном подборе праймеров и условий для ПЦР, которые необходимо пересмотреть, ориентируясь на объект исследования.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

ПЦР – это базовый метод молекулярно-генетического анализа, который позволяет получать препаративное количество интересующего участка ДНК путем многократного копирования генетического материала ферментом ДНК-зависимой ДНК-полимеразой с исследуемого участка ДНК, с которым комплементарно гибридизуются два праймера (искусственно синтезированные короткие цепи олигонуклеотидов). В качестве материала для синтеза используются дезоксинуклеотид-трифосфаты, необходимым катализатором выступают ионы Mg^{2+} (Патрушев, 2004; Pelt-Verkuil et al., 2008). На рынке представлены разнообразные коммерческие смеси для проведения ПЦР, которые позволяют уменьшить вероятность контаминации и снижают трудозатраты. Существует целый набор техник ПЦР, позволяющих решать специфические задачи. Самая

простая схема ПЦР, подразумевающая получение ампликона с одной парой праймеров в режиме одного профиля условий реакции, называется **конвенциональной или стандартной ПЦР**. **Мультиплексная** (множественная, мультипраймерная) ПЦР подразумевает использование смеси двух и более пар праймеров для одновременного анализа нескольких локусов (Mahony et al., 1995; Nenegariu et al., 1997; Патрушев, 2004). Применение этого подхода позволяет сократить затраты труда и времени, когда набор образцов нужно проанализировать на несколько признаков. Так, за одну реакцию можно провести проверку качества ДНК и выявить целевой объект (Илинский, Захаров, 2007), например, присутствие грибной инфекции, микроспоридий, бактерий, вирусов или осуществить наработку нескольких продуктов для секвенирования. Параметры

реакционной смеси могут быть аналогичны конвенциональной ПЦР, однако может потребоваться значительная работа по оптимизации реакции. Особое внимание необходимо уделить подбору праймеров, их относительной концентрации, а также концентрации ПЦР буфера, отношению катионов магния и дезоксирибонуклеотид-трифосфатов (Henegariu et al., 1997; Markoulatos et al., 2002). Кроме того, оптимизация может потребоваться не только для температуры отжига смеси праймеров, но и для температуры элонгации. В ряде случаев выход продукта увеличивается при снижении этого параметра до 65 °С (Henegariu et al., 1997). **Гнездовая ПЦР** (nested PCR) позволяет усилить разрешающую способность анализа, например, при низком качестве/количестве выделенной ДНК, низком титре патогена, или когда надо избавиться от неспецифических продуктов (Патрушев, 2004; Pelt-Verkuil et al., 2008; Arthofer et al., 2009; Вуков et al., 2020). Этот вариант состоит из двух последовательных ПЦР, первый раунд включает 10–15 циклов амплификации локуса с внешними праймерами к геномной ДНК, второй – 25–30 циклов с использованием «внутренних» праймеров, а в качестве матрицы – ампликон с первого этапа. Отметим, что гнездовая ПЦР весьма чувствительна к контаминации малых количеств сторонней ДНК, то есть высока опасность ложно-положительного результата. **Количественная ПЦР** (qPCR) или ПЦР в реальном времени (Real-time PCR) – технология, позволяющая автоматически определять не только присутствие целевого продукта (последовательности) в образце, но и измерять количество исходных копий. Количество наработанной ДНК измеряется после каждого цикла амплификации с помощью интеркалирующих флуоресцентных красителей или специальных олигонуклеотидных зондов. С помощью красителя, флуоресценция которого увеличивается пропорционально количеству амплифицированной ДНК, можно проводить количественное определение в «реальном времени», а наличие зондов позволяет обнаружить сразу несколько продуктов ПЦР в одном образце. Технология количественной ПЦР имеет множество преимуществ относительно «классической» ПЦР, в частности, позволяет оценить экспрессию генов (Russell et al., 1992; Патрушев, 2004; Mackay, 2004; Arya et al., 2005; Rebrikov, Trofimov, 2006; Ребриков и др., 2009), пригодность ДНК для ПЦР по данным кривых плавления (т.е. не требуется проводить электрофорез), нагрузку патогена или симбионта (Bell et al., 2009; Вуков et al., 2020; Maheshwari et al., 2021) и даже определить пол насекомого (Belousova et al., 2019). Еще один вариант количественной ПЦР, который пока не нашел широкого применения в исследованиях насекомых по причине высокой стоимости – это **капельная цифровая ПЦР** (ддПЦР, droplet digital PCR). Этот метод более точный в количественных оценках, поскольку подразумевает, что реакционная смесь разделяется в одной пробирке на 15–20 тысяч микрообъемов (капель), в каждом из которых реакция идет независимо, и результат реакции оценивается по финальной точке. Прибор оценивает количество капель и определяет, где реакция прошла, а где – нет. Подразумевается, что в тех микрокаплях, в которые попала целевая ДНК, сигнал будет положительным, а в которые не попала – отрицательным (Hindson et al., 2011; Sofronova et al., 2016). Примеров применения этого подхода в исследованиях по

защите растений не так много по причине, как минимум, высокой стоимости анализа. Здесь приведем два примера, где удалось значительно увеличить разрешающую способность анализа, что в конечном итоге может окупить затраты применения ддПЦР. Американским исследователям (Zink et al., 2017) удалось разработать протокол детекции генетического материала хлопковой совки (*Helicoverpa armigera*) из сборов клеевых ловушек против тысячекратно превосходящего количества сигнала от американской кукурузной совки (*Helicoverpa zea*). Эффективная детекция телиоспор *Tilletia controversa* (возбудитель карликовой головни пшеницы) в почве крайне трудна даже с применением молекулярно-генетических методов. Однако разработанный протокол на основе ддПЦР позволил в 100 раз увеличить чувствительность анализа по сравнению с конвенциональной ПЦР и в 4 раза по сравнению с ПЦР в реальном времени (Liu et al., 2020). Далее подробнее остановимся на применении разных ПЦР подходов для решения частных задач.

Музеи хранят ценные экземпляры насекомых, однако их использование для работы с ДНК крайне ограничено, поскольку качество получаемой ДНК, обычно, низкое (Lalonde, Marcus, 2020). В попытке расширить возможности использования музейных экземпляров разрабатываются специальные подходы, основанные на ПЦР. Одна из успешных методик – использование полугнездового подхода, когда баркодирующий участок разбивается на два участка и нарабатывается двумя раундами ПЦР с вырожденными праймерами, у которых на 5' конце расположена последовательность M13 (Mitchell 2015). Требуется четыре реакции, в результате которых получается два перекрывающихся участка гена *COI*, общей длиной 559 п.н. Далее эти участки можно секвенировать с праймеров M13. Разработанные в упомянутой работе праймеры должны подходить для широкого круга насекомых, включая жесткокрылых, чешуекрылых, двукрылых, полужесткокрылых, стрекоз и, как полагает автор, многих других групп насекомых. В отношении возраста образцов, эффективность подхода на модельных образцах жесткокрылых и чешуекрылых составляла 67% для образцов, хранящихся в музее до 25 лет и 51% – 26–55 лет.

Разработка методов детекции инфекций на основе ПЦР остается актуальной задачей на протяжении десятилетий. Двадцать лет назад были предложены протоколы гнездовой ПЦР для выявления фитоплазм – патогенов растений, переносимых насекомыми, и схемы рестрикционного анализа для диагностики патогена (Gundersen, Lee, 1996; Harrison et al., 2002), которые остаются актуальными и в настоящее время (Hernandez et al., 2020). Действительно, фитопlasма до молекулярной эры была трудноуловима для исследователей, ее проблематично культивировать и затруднительно различать разные изоляты по фенотипу (морфология, хозяин, течение патогенного процесса). С развитием техники микроскопии и молекулярных методов диагностики наука узнала о широком распространении микроорганизмов, не проявляющих явные патогенные свойства. Например, давно известны такие бактерии, как *Buchera* и *Wigglesworthia*, обеспечивающие своим хозяевам (тля и муха це-це, соответственно) метаболическую комплементацию. Однако и сейчас выявляются новые представители облигатных симбиотических

бактерий. Так, в 2020 году появилось сообщение о *Candidatus Symbioecobacterium* у нематоды подотряда Tylenchina, которая необходима хозяину для инфицирования насекомых (Martinson et al., 2020).

Задачи по выявлению и идентификации симбионтов насекомых часто возникают не только в фундаментальных исследованиях, но и в производстве. Так корейские специалисты для коммерческих ферм по разведению пластинчатых жуков *Protaetia brevitarsis* и *Allomyrina dichotoma* разработали мультиплексную систему (Kwak et al., 2015), которая позволяла выявлять в одной реакции грибные инфекции *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, бактерии *Bacillus thuringiensis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens* и нудивирус *Oryctes rhinoceros*. Кроме того, авторы использовали систему капиллярного электрофореза для количественной оценки инфекций. Важно, что в таких практических приложениях круг актуальных инфекций очерчен, поэтому и результат разработок оказывается востребован. Другой пример – выявление микроспоридий в медицинской практике методом ПЦР в реальном времени, где видовая принадлежность устанавливается по кривой плавления продуктов реакции (Polley et al., 2011). Разработка такого подхода для анализа популяций, лабораторных или промышленных культур насекомых перспективна, поскольку может значительно увеличить эффективность диагностики и снизить трудозатраты в сравнении с традиционным подходом, основанным на световой микроскопии. Примером здесь может служить выявление микроспоридий и различных вирусов (бакуловirusы, парвовirusы) у таких экономически значимых насекомых, как *Apis mellifera*, *Bombus terrestris*, китайский дубовый шелкопряд *Antheraea pernyi*, тутовый шелкопряд *Bombyx mori* (Erler et al., 2012; Wu et al., 2017; Li et al., 2019). Разработка протоколов секвенирования следующего поколения (NGS) позволяет одновременно (параллельное секвенирование) выявлять как разнообразие микроспоридий, так и устанавливать видовую принадлежность хозяев (Trzebny et al., 2020). Кроме того, эти протоколы позволяют обнаруживать ранее неопищенное (криптическое) разнообразие патогенов, что особенно важно в случаях микс-инфекции микроспоридий (Trzebny et al., 2020), а среди массовых видов мелких двукрылых – выявлять редкие виды (Meier et al., 2015).

Один из существенных недостатков большинства методов NGS – короткие прочтения, менее 500 п.н., которые требуется перекрывать с другими фрагментами для получения более длинных участков, используя биоинформационные подходы. В результате нередко получаются химерные последовательности или теряется часть информации о нуклеотидной последовательности гена. Для решения этой проблемы предложен модифицированный подход, подразумевающий секвенирование нескольких локусов, амплифицированных в результате трехшаговой гнездовой ПЦР, с помощью которой, в частности, получена хорошая воспроизводимость на музейных экземплярах пчел, хранившихся до пяти лет на энтомологических булавках и фиксированных в спирте (Akankunda et al., 2020).

Выяснение роли полифагов, а именно их пищевого рациона в экосистеме, также может успешно решаться применением ПЦР. Извлечение содержимого кишечника насекомого, выделение ДНК и скрининг ДНК растений

позволяет идентифицировать его пищевые предпочтения. В модельном эксперименте исследователи генотипировали эталонную коллекцию растений по гену большой субъединицы рибулозобифосфаткарбоксилазы (Matheson et al., 2008). Представителей восьми семейств насекомых собрали с растений, выделили ДНК из пищеварительной системы и секвенированием по Сенгеру определили присутствие ДНК конкретных видов растений. Авторы отмечают, что в тестах на сверчках ДНК растения удавалось выявить в течение 12 часов после последнего приема пищи насекомыми (Matheson et al., 2008). Кроме того, поскольку авторы в эксперименте отдельно отмечают, что собранных насекомых оставляли на тех растениях, на которых их нашли до непосредственных экспериментальных процедур (чтобы избежать смешения разной ДНК), то именно технологии NGS необходимы для данного рода исследований. Отметим, что исследования пищевого поведения по схожей схеме применяются и для хищных насекомых (Китаев и др., 2011).

Зачастую схема исследования требует идентификацию пола особи. Традиционный морфологический подход может оказаться затруднительным или даже невозможным в случае слабого полового диморфизма или использования личиночных стадий насекомого. Для кариологического метода надо использовать живые клетки, что также в большинстве случаев невозможно в рамках конкретного эксперимента, не говоря уже о высокой трудоемкости подхода и высоких профессиональных требованиях к оператору. Напротив, молекулярно-генетический подход позволяет анализировать постмортальный и личиночный материал, кроме того можно использовать экзувий, порцию гемолимфы или отдельные яйца насекомого, а сам анализ легко масштабируется. Так, для некоторых видов чешуекрылых (*Bombyx mori*, *Cydia pomonella*, *Lobesia botrana*, *Ostrinia nubilalis*) были разработаны методы идентификации пола по молекулярно-генетической детекции W-хромосомы (Abe et al., 1998; Aguirre et al., 2020; Coates and Hellmich, 2003; Fuková et al., 2009). Напомним, что у чешуекрылых самцы гомогаметны (ZZ), а самки гетерогаметны (ZW или Z0). На основе выявления полоспецифической хромосомы Y основывались и методы определения пола малого булавоусого хрущака *Tribolium castaneum* (Lagisz et al., 2010b), комаров рода *Anopheles* (Krzywinski et al., 2004; Hall et al., 2013), клопа *Rhodnius proximus* (Koerich et al., 2016), плодовой мушки *Drosophila melanogaster* (Carvalho and Clark, 2013). При этом подходе подразумевается, что в отсутствие полоспецифической хромосомы (Y или W) отсутствует и ПЦР-продукт. Однако, этот результат может быть ложно-отрицательным, что приведет к неправильному выводу. Причина ложно-отрицательного результата может быть от банальной технической ошибки, до отсутствия последовательности в хромосоме вследствие делеции. Учитывая высокую вариабельность полоспецифических хромосом, такая ситуация может возникнуть даже на уровне популяции вида. Чтобы преодолеть эту проблему, а также, что еще более важно, реализовать в отношении чешуекрылых универсальный подход определения пола, был предложен метод оценки соотношения однокопийного аутосомального гена к однокопийному гену, сцепленному с полом (т.е. гену, локализованному в Z хромосоме) методом PCR (Belousova et al., 2019). Универсальность

подхода реализуется в свете использования праймеров к белок-кодирующим генам, которые фактически находятся под значительно более строгим отбором, нежели некодирующие последовательности, использованные в ряде работ, а также в том, что синтения Z-хромосомы довольно

консервативна, по сравнению с W-хромосомой. В результате этот метод был успешно опробован на чешуекрылых разных семейств, при этом использовалась одна и та же пара праймеров, специфичных к гену, сцепленному с полом.

Заключение

Активно развивающиеся методы, основанные на ПЦР, открывают большие возможности для исследователей, позволяя решать более сложные фундаментальные и

прикладные вопросы. Музейные образцы, ранее казавшиеся недоступными для молекулярно-генетического исследования, все чаще становятся объектами ДНК анализа.

Авторы выражают благодарность анонимным рецензентам, а также членам редколлегии журнала Алёхину А.В. и Шамшеву И.В. за ценные замечания при чтении рукописи.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-04-00983, БП № 121031800061-7.

Библиографический список (References)

- Быков РА, Юрлова ГВ, Деменкова МА, Дубатовов ВВ, Керчев ИА и др. (2020) Высокий уровень встречаемости эндосимбионта *Wolbachia* в популяциях сибирского шелкопряда *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae) на территории России. *Журнал общей биологии* 81(5):387–393.
- Голуб ВБ, Цуриков МН, Прокин АА (2021) Коллекции насекомых: сбор, обработка и хранение материала. М.: Товарищество научных изданий КМК. 385 с.
- Гржибовский АМ (2008) Доверительные интервалы для частот и долей. *Экология человека* 5:57–60.
- Китаев КА, Удалов МБ, Беньковская ГВ (2011) Молекулярно-генетические методы анализа хищничества среди насекомых в агроценозах. *Экологическая генетика* 9(4):15–24 <https://doi.org/10.17816/ecogen9415-24>
- Поляничко АМ (2007) Электрофорез в агарозном геле. Санкт-Петербург: СПбГУ. 43 с.
- Рибриков ДВ, Саматов ГА, Трофимов ДЮ, Семенов ПА, Савилова АМ и др (2009) ПЦР «в реальном времени». М.: БИНОМ. Лаборатория знания. 223 с.
- Abe H, Kanehara M, Terada T., Ohbayashi, F., Shimada, T., et al. (1998). Identification of novel random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) on the W chromosome of the domesticated silkworm, *Bombyx mori*, and the wild silkworm, *B. mandarina*, and their retrotransposable element-related nucleotide sequences. *Genes Genet Syst* 73:243–254. <https://doi.org/10.1266/ggs.73.243>
- Agresti A, Coull BA (1998) Approximate is better than “exact” for interval estimation of binomial proportions. *The American Statistician* 52(2):119–126. <https://doi.org/10.1080/00031305.1998.10480550>
- Aguirre C, Olivares N, Hinrichsen P (2020) An Efficient Duplex PCR Method for Sex Identification of the European Grapevine Moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) at Any Developmental Stage. *J Econ Entomol* 113(5):2505–2510. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa155>
- Akankunda T, To H, Rodriguez Lopez C, Leijts R, Hogendoorn K (2020) A method to generate multilocus barcodes of pinned insect specimens using MiSeq. *Mol Ecol Resour* 20(3):692–705. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13143>
- Aljanabi SM, Martinez I (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucl Acids Res* 25(22):4692–4693. <https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
- Arya M, Shergill IS, Williamson M, Gommersall L, Arya N, et al. (2005) Basic principles of real-time quantitative PCR. *Expert Rev Mol Diagn* 5(2):209–219. <https://doi.org/10.1586/14737159.5.2.209>
- Armbrecht M, Eppendorf AG (2013) Detection of contamination in DNA and protein samples by photometric measurements. *Application Note* 279.
- Asgar U, Malik MF, Anwar F, Javed A, Raza A (2015) DNA extraction from insects by using different techniques: a review. *Adv Entomol* 3(04): 132. <https://doi.org/10.4236/ae.2015.34016>
- Ball SL, Armstrong KF (2014) Rapid, one-step DNA extraction for insect pest identification by using DNA barcodes. *J Econ Entomol* 101(2):523–532. <https://doi.org/10.1093/jee/101.2.523>
- Bell AS, Blanford S, Jenkins N, Thomas MB, Read AF (2009). Real-time quantitative PCR for analysis of candidate fungal biopesticides against malaria: technique validation and first applications. *J Invertebr Pathol* 100(3):160–168. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.01.006>
- Bhattacharyya GK, Karandinos MG, DeFoliart GR (1979) Point estimates and confidence intervals for infection rates using pooled organisms in epidemiologic studies. *Am J Epidemiol* 109(2):124–131. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112667>
- Bykov R, Kerchev I, Demenkova M, Ryabinin A, Ilinsky Y (2020). Sex-Specific *Wolbachia* Infection Patterns in Populations of *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera; Curculionidae: Scolytinae). *Insects* 11(8): 547. <https://doi.org/10.3390/insects11080547>
- Carvalho AB, Clark AG (2013) Efficient identification of Y chromosome sequences in the human and *Drosophila* genomes. *Genome Res* 23:1894–1907. <https://doi.org/10.1101/gr.156034.113>
- Castalanelli MA, Severtson DL, Brumley CJ, Szito A, Footitt RG, et al (2010) A rapid non-destructive DNA extraction method for insects and other arthropods. *J Asia Pac Entomol* 13(3):243–248. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2010.04.003>
- Choudhury R, Werren JH (2006) Troi.cc.rochester.edu Unpublished primers. <http://troi.cc.rochester.edu/~wolb/FIBR/downloads.htm>. (07 июля 2021).
- Clopper CJ, Pearson ES (1934) The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika* 404–413. <https://doi.org/10.2307/2331986>
- Coates BS, Hellmich RL (2003) Two sex-chromosome-linked microsatellite loci show geographic variance among North American *Ostrinia nubilalis*. *J Insect Sci* 3: 29. <https://doi.org/10.1093/jis/3.1.29>

- Dhananjeyan KJ, Paramasivan R, Tewari SC, Rajendran R, Thenmozhi V, et al. (2010) Molecular identification of mosquito vectors using genomic DNA isolated from eggshells, larval and pupal exuvium. *Trop Biomed* 27(1):47–53.
- Dillon N, Austin AD, Bartowsky E (1996) Comparison of preservation techniques for DNA extraction from hymenopterous insects. *Insect Mol Biol* 5(1):21–24. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.1996.tb00036.x>
- Dodge C, Coolidge J, Cooperband M, Cossé A, Carrillo D, et al. (2017) Quercivorol as a lure for the polyphagous and Kuroshio shot hole borers, *Euwallacea* spp. nr. *forficatus* (Coleoptera: Scolytinae), vectors of *Fusarium dieback*. *PeerJ* 5: e3656. <https://doi.org/10.7717/peerj.3656>
- Ebert TA, Brlansky R, Rogers M. (2010) Reexamining the pooled sampling approach for estimating prevalence of infected insect vectors. *Ann Entomol Soc Am* 103(6):827–837. <https://doi.org/10.1603/AN09158>
- Erler S, Lommatzsch S, Lattorff HMG (2012) Comparative analysis of detection limits and specificity of molecular diagnostic markers for three pathogens (Microsporidia, *Nosema* spp.) in the key pollinators *Apis mellifera* and *Bombus terrestris*. *Parasitol Res* 110(4):1403–1410. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2640-9>
- Fukatsu T (1999) Acetone preservation: a practical technique for molecular analysis. *Mol Ecol* 8(11):1935–1945. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.1999.00795.x>
- Ghobari H, Zamani H (2020) A review on DNA barcoding for identification of insects. *Iran J Biol* 1(2):52–64.
- Gilbert MTP, Moore W, Melchior L, Worobey M (2007) DNA extraction from dry museum beetles without conferring external morphological damage. *PLoS One* 2(3): e272. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000272>
- Gorokhova E (2005) Effects of preservation and storage of microcrustaceans in RNAlater on RNA and DNA degradation. *Limnol Oceanogr Meth* 3(2):143–148. <https://doi.org/10.4319/lom.2005.3.143>
- Gregory PG, Rinderer TE (2004) Non-destructive sources of DNA used to genotype honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Entomol Exp Appl* 111(3):173–177. <https://doi.org/10.1111/j.0013-8703.2004.00164.x>
- Gu W, Lampman R, Novak RJ (2003) Problems in estimating mosquito infection rates using minimum infection rate. *J Med Entomol* 40(5):595–596. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.5.595>
- Gundersen DE, Lee IM (1996) Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathol Mediterr* 144–151.
- Haile S, Corbett RD, Bilobram S, Bye MH, Kirk H, et al. (2019). Sources of erroneous sequences and artifact chimeric reads in next generation sequencing of genomic DNA from formalin-fixed paraffin-embedded samples. *Nucleic Acids Res* 47(2): e12–e12. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1142>
- Hajibabaei M, DeWaard JR, Ivanova NV, Ratnasingham S, Dooh RT, et al. (2005). Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philos TR Soc B* 360(1462):1959–1967. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1727>
- Hale ML, Burg TM, Steeves TE (2012). Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PLoS One* 7:e45170. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045170>
- Harrison NA, Myrie W, Jones P, Carpio ML, Castillo M, et al. (2002) 16S rRNA interoperon sequence heterogeneity distinguishes strain populations of palm lethal yellowing phytoplasma in the Caribbean region. *Ann Appl Biol* 141(2):183–193. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00211.x>
- Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, DeWaard JR (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270(1512):313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hindson BJ, Ness KD, Masquelier DA, Belgrader P, Heredia NJ et al. (2011) High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Anal Chem* 83(22):8604–8610. <https://doi.org/10.1021/ac202028g>
- Hosseini A, Khanjani M, Asadi M, Soltani J (2019). Comparison of five DNA extracting protocols from *Typhlodromus* (*Anthoseius*) *bagdasarjani* Wainsten and *Arutunjan* (Acari: Phytoseiidae). *Syst Appl Acarol* 24(7):1249–1260. <https://doi.org/10.11158/saa.24.7.9>
- Hunter SJ, Goodall TI, Walsh KA, Owen R, Day JC (2008) Nondestructive DNA extraction from blackflies (Diptera: Simuliidae): retaining voucher specimens for DNA barcoding projects. *Mol Ecol Resour* 8(1):56–61. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01879.x>
- Ilinsky Y (2013) Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes. *PLoS One* 8(1):e54373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054373>
- Koerich LB, Dupim EG, Faria LL, Dias FA, Dias AF, et al. (2016) First report of Y-linked genes in the kissing bug *Rhodnius prolixus*. *BMC Genomics* 17:100. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2425-8>
- Koetsier G, Cantor E (2019) A practical guide to analyzing nucleic acid concentration and purity with microvolume spectrophotometers. *New England Biolabs Inc.*
- Kranzfelder P, Ekrem T, Stur E (2016) Trace DNA from insect skins: a comparison of five extraction protocols and direct PCR on chironomid pupal exuviae. *Mol Ecol Resour* 16(1):353–363. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12446>
- Krzywinski J, Nusskern DR, Kern MK, Besansky NJ (2004) Isolation and characterization of Y chromosome sequences from the African malaria mosquito *Anopheles gambiae*. *Genetics* 166:1291–1302. <https://doi.org/10.1534/genetics.166.3.1291>
- Kwak KW, Nam SH, Choi JY, Lee S, Kim HG, et al. (2015) Simultaneous detection of fungal, bacterial, and viral pathogens in insects by multiplex PCR and capillary electrophoresis. *J Industr Entomol* 30(2):64–74. <https://doi.org/10.7852/IJIE.2015.30.2.64>
- Lagisz M, Port G, Wolff K (2010a) A cost-effective, simple and high-throughput method for DNA extraction from insects. *Insect Sci* 17(5):465–470. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2010.01318.x>
- Lagisz M, Wilde KE, Wolff K (2010b) The development of PCR-based markers for molecular sex identification in the model insect species *Tribolium castaneum*. *Entomol Exp Appl* 134(1):50–59. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00935.x>

- Lalonde MM, Marcus JM (2020) How old can we go? Evaluating the age limit for effective DNA recovery from historical insect specimens. *Syst Entomol* 45(3):505–515. <https://doi.org/10.1111/syen.12411>
- Lawrence AL, Brown GK, Peters B, Spielman DS, Morin-Adeline V, et al. (2014) High phylogenetic diversity of the cat flea (*Ctenocephalides felis*) at two mitochondrial DNA markers. *Med Vet Entomol* 28(3):330–336.
- Lévy J, Hancock J, Ravindran A, Gross D, Tamborindeguy C, et al. (2013) Methods for Rapid and Effective PCR-Based Detection of ‘Candidatus *Liberibacter solanacearum*’ From the Insect Vector *Bactericera cockerelli*: Streamlining the DNA Extraction/Purification Process. *J Econ Entomol* 106(3):1440–1445. <https://doi.org/10.1603/EC12419>
- Li H, Xu H, Zhao C, Sulaiman Y, Wu C (2011) A PCR amplification method without DNA extraction. *Electrophoresis* 32(3-4):394–397. <https://doi.org/10.1002/elps.201000392>
- Lin P (2012) Genomic DNA QC Using Standard Gel Electrophoresis <https://jgi.doe.gov/wp-content/uploads/2014/02/Genomic-DNA-QC-2012.pdf>
- Li P, Mi R, Zhao R, Li X, Zhang B, et al. (2019) Quantitative real-time PCR with high-throughput automatable DNA preparation for molecular screening of *Nosema* spp. in *Antheraea pernyi*. *J Invertebr Pathol*, 164:16–22. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.04.003>
- Liu D, Coloe S, Baird R, Pedersen J (2000) Rapid mini-preparation of fungal DNA for PCR. *J Clin Microbiol* 38(1):471–471. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.1.471-471.2000>
- Liu J, Li C, Muhae-Ud-Din G, Liu T, Chen W, et al. (2020) Development of the droplet digital PCR to detect the teliospores of *Tilletia controversa* Kühn in the soil with greatly enhanced sensitivity. *Front Microbiol* 11:4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00004>
- Mackay IM (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect* 10(3):190–212. <https://doi.org/10.1111/j.1198-743X.2004.00722.x>
- Maheshwari Y, Selvaraj V, Godfrey K, Hajeri S, Yokomi R (2021) Multiplex detection of “Candidatus *Liberibacter asiaticus*” and *Spiroplasma citri* by qPCR and droplet digital PCR. *PLoS one* 16(3):e0242392. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242392>
- Mandrioli M, Borsatti F, Mola L (2006) Factors affecting DNA preservation from museum-collected lepidopteran specimens. *Entomol Exp Appl* 120(3):239–244. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00451.x>
- Mandrioli M (2008) Insect collections and DNA analyses: how to manage collections? *Museum Manag Curatorship* 23(2):193–199. <https://doi.org/10.1080/09647770802012375>
- Mahony JB, Luinstra KE, Tyndall M, Sellors JW, Krepel J, et al. (1995). Multiplex PCR for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in genitourinary specimens. *J Clin Microbiol* 33(11):3049–3053. <https://doi.org/10.1128/jcm.33.11.3049-3053.1995>
- Martinson VG, Gawryluk RM, Gowen BE, Curtis CI, Jaenike J, et al. (2020). Multiple origins of obligate nematode and insect symbionts by a clade of bacteria closely related to plant pathogens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 117(50):31979–31986. <https://doi.org/10.1073/pnas.2000860117>
- Matheson CD, Muller GC, Junnila A, Vernon K, Hausmann A, et al. (2008) A PCR method for detection of plant meals from the guts of insects. *ORG DIVERS EVOL* 7(4):294–303. <https://doi.org/10.1016/j.ode.2006.09.002>
- Meier R, Wong W, Srivathsan A, Foo M (2016) \$1 DNA barcodes for reconstructing complex phenomes and finding rare species in specimen-rich samples. *Cladistics* 32(1):100–110. <https://doi.org/10.1111/cla.12115>
- Mitchell A (2015) Collecting in collections: a PCR strategy and primer set for DNA barcoding of decades-old dried museum specimens. *Mol Ecol Resour* 15(5):1102–1111. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12380>
- Miura K, Higashiura Y, Maeto K (2017) Evaluation of easy, non-destructive methods of DNA extraction from minute insects. *Appl Entomol Zool* 52(2):349–352. <https://doi.org/10.1007/s13355-017-0481-4>
- Moreau CS, Wray BD, Czekanski-Moir JE, Rubin BE (2013) DNA preservation: a test of commonly used preservatives for insects. *Invertebrate systematics* 27(1):81–86. <https://doi.org/10.1071/IS12067>
- Nagy ZT (2010) A hands-on overview of tissue preservation methods for molecular genetic analyses. *ORG DIVERSEVOL* 10(1):91–105. <https://doi.org/10.1007/s13127-010-0012-4>
- Nakahama N, Isagi Y, Ito M (2019) Methods for retaining well-preserved DNA with dried specimens of insects. *Eur J Entomol* 116:486–491. <http://hdl.handle.net/2433/245245>
- Nguyen HQ, Kim YI, Borzée A, Jang Y (2017) Efficient isolation method for high-quality genomic DNA from cicada exuviae. *Ecol Evol* 7(20):8161–8169. <https://doi.org/10.1002/ece3.3398>
- Pace NR, Walker TA, Schroeder E (1977) Structure of the 5.8 S RNA component of the 5.8 S-28S ribosomal RNA junction complex. *Biochemistry* 16(24):5321–5328. <https://doi.org/10.1021/bi00643a025>
- Peña-Llopis S, Brugarolas J (2013) Simultaneous isolation of high-quality DNA, RNA, miRNA and proteins from tissues for genomic applications. *Nat Protoc* 8(11):2240–2255. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.141>
- Polley SD, Boadi S, Watson J, Curry A, Chiodini PL (2011) Detection and species identification of microsporidial infections using SYBR Green real-time PCR. *J Med Microbiol* 60(4):459–466. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.026781-0>
- PostRJ, FlookPK, MillestAL (1993) Methods for the preservation of insects for DNA studies. *Biochem Syst Ecol* 21(1):85–92. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(93\)90012-G](https://doi.org/10.1016/0305-1978(93)90012-G)
- Quicke DL, Lopez-Vaamonde C, Belshaw R (1999) Preservation of hymenopteran specimens for subsequent molecular and morphological study. *ZOOL SCR* 28(1-2):261–267. <https://doi.org/10.1046/j.1463-6409.1999.00004.x>
- Ramos Hernández E, Leshner Gordillo JM, Oropeza Salín C, Ortiz García CF, Magaña Alejandro MA., et al. (2020). Detection and Identification of Phytoplasmas in the 16SrIV-A, -B, and -D Subgroups in Palms in Tabasco, Mexico. *Plant Dis* 104(10):2606–2612. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1488-RE>
- Rebrikov DV, Trofimov DY (2006) Real-time PCR: a review of approaches to data analysis. *Appl Biochem Microbiol* 42(5):455–463. <https://doi.org/10.1134/S0003683806050024>

- Reiss RA, Schwert DP, Ashworth AC (1995) Field preservation of Coleoptera for molecular genetic analyses. *Environ Entomol* 24(3):716–719. <https://doi.org/10.1093/ee/24.3.716>
- Rivero ER, Neves AC, Silva-Valenzuela MG, Sousa SO, Nunes FD (2006) Simple salting-out method for DNA extraction from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues. *Pathol Res Pract* 202(7):523–529. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2006.02.007>
- Schabel HG (2010) Forest insects as food: A global review. *Forest insects as food: Humans bite back*. 37 p.
- Siozios S, Massa A, Parr CL, Verspoor RL, Hurst GD (2020) DNA barcoding reveals incorrect labelling of insects sold as food in the UK. *PeerJ* 8:e8496.
- Silva BE, Zingoni ZM, Koekemoer LL, Dahan-Moss YL (2021) Microbiota identified from preserved Anopheles. *MALARIA J* 20(1):1–18. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03754-7>
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, et al. (1994) Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann Entomol Soc Am* 87(6), 651–701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Sofronova JK, Ilinsky YY, Orishchenko KE, Chupakhin EG, Lunev, et al. (2016). Detection of mutations in mitochondrial DNA by droplet digital PCR. *Biochemistry (Moscow)* 81(10):1031-1037. <https://doi.org/10.1134/S0006297916100011>
- Thongjuek K, Chotigeat W, Bumrungsri S, Thanakiatkrai P, Kitpipit T (2019) A new cost-effective and fast direct PCR protocol for insects based on PBS buffer. *Mol Ecol Resour* 19(3):691–701. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13005>
- Tian EW, Yu H (2013) A simple and rapid DNA extraction protocol of small insects for PCR amplification. *Entomol News* 123(4):303–310. <https://doi.org/10.3157/021.123.0403>
- Trzebny A, Slodkiewicz-Kowalska A, Becnel JJ, Sanscrainte N, Dabert M (2020) A new method of metabarcoding Microsporidia and their hosts reveals high levels of microsporidian infections in mosquitoes (Culicidae). *Mol Ecol Resour* 20(6):1486–1504. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13205>
- Vítková M, Fuková I, Kubičková S, Marec F (2007) Molecular divergence of the W chromosomes in pyralid moths (Lepidoptera). *Chromosome Res* 15:917–930. <https://doi.org/10.1007/s10577-007-1173-7>
- Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3(5):294–299.
- Wald A, Wolfowitz J (1939) Confidence limits for continuous distribution functions. *Annals Math Stat* 10(2):105–118.
- Walter SD, Hildreth SW, Beaty BJ (1980) Estimation of infection rates in populations of organisms using pools of variable size. *Am J Epidemiol* 112(1):124–128. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112961>
- Wang Q, Wang X (2012) Comparison of methods for DNA extraction from a single chironomid for PCR analysis. *Pak J Zool* 44(2).
- Weisser WW, Siemann E (2008) The various effects of insects on ecosystem functioning. In *Insects and ecosystem function* Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 3–24. https://doi.org/10.1007/978-3-540-74004-9_1
- Williams J, Cowlshaw R, Sanou A, Ranson H, Grigoraki L (2021) In vivo functional validation of the V402L voltage gated sodium channel mutation in the malaria vector *An. gambiae*. *Pest Manag Sci* <https://doi.org/10.1002/ps.6731>
- Wilson EB (1927) Probable inference, the law of succession, and statistical inference. *J Am Stat Ass* 22(158):209–212.
- Wong WH, Tay YC, Puniamoorthy J, Balke M, Cranston PS, et al. (2014) ‘Direct PCR’ optimization yields a rapid, cost-effective, nondestructive and efficient method for obtaining DNA barcodes without DNA extraction. *Mol Ecol Resour* 14(6):1271–1280. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12275>
- Wu S, He YQ, Lu XM, Zhang XF, Shuai JB, et al. (2017) Early and simultaneous detection of *Nosema bombycis* (Microsporidia: Nosematidae), *nucleopolyhedrovirus* (Baculoviridae), and *densovirus* (Parvoviridae) by multiplex real-time polymerase chain reaction in *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae). *Can Entomol* 149(2):265–275. <https://doi.org/10.4039/tce.2016.54>
- Yang LH, Gratton C (2014) Insects as drivers of ecosystem processes. *Curr Opin Insect Sci* 2:26–32. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2014.06.004>
- Yudina MA, Bykov RA, Kotti BK, Vysochina NP, Stakheev VV, et al. (2019) *Wolbachia* Infection in Flea Populations (Insecta: Siphonaptera). *Biol Bull Rev* 9(5):403–411. <https://doi.org/10.7868/S0044459618030053>
- Yumoto K, Kanbe T, Saito Y, Kaneko S, Tsuda Y (2021) Efficient PCR amplification protocol of nuclear microsatellites for exuviae-derived DNA of cicada, *Yezoterpnosia nigricosta*. *Front Insect Sci* 1:7.
- Jalali SK, Ojha R, Venkatesan T (2015) DNA barcoding for identification of agriculturally important insects. In *New horizons in insect science: Towards sustainable pest management*. Springer, New Delhi. pp. 13–23. https://doi.org/10.1007/978-81-322-2089-3_2
- Jinbo U, Kato T, Ito M (2011) Current progress in DNA barcoding and future implications for entomology. *Entomological Science* 14(2):107–124. <https://doi.org/10.1111/j.1479-8298.2011.00449.x>
- Yoder M, De Ley IT, King IW, Mundo-Ocampo M, Mann J, et al. (2006) DESS: a versatile solution for preserving morphology and extractable DNA of nematodes. *Nematology* 8(3):367–376.
- Qiagen.com <https://www.qiagen.com/us/products/discovery-and-translational-research/sample-collection-stabilization/tissue-ffpe/allprotect-tissue-reagent/> (12.12.2021)

Translation of Russian References

- Bykov RA, Yurlova GV, Demenkova MA, Dubatolov VV, Kerchev IA et al. (2020) [High *Wolbachia* prevalence in populations of Siberian silk moth *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae) in the territory of Russia.]. *Zhurnal Obshchei Biologii* 81(5):387–393. (In Russian)
- Golub VB, Tsurikov MN, Prokin AA (2021) [Insect collections: collection, processing and storage of material].

- Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK. 385 с. (In Russian)
- Grzhibovskiy AM (2008) [Confidence intervals for frequencies and beats]. *Ekologiya cheloveka* 5:57–60. (In Russian)
- Kitaev KA, Udalov MB, Benkovskaya GV (2011) [Molecular genetic methods for the analysis of predation among insects in agrocenoses]. *Ekologicheskaya genetika* 9(4):15–24 (In Russian) <https://doi.org/10.17816/ecogen9415-24>
- Polyanichko AM (2007) [Agarose gel electrophoresis]. St. Petersburg: SPbGU. 43 p.
- Rebrikov DV, Samatov GA, Trofimov DY, Semenov PA, Savilova AM et al. (2009) [Real-time PCR]. Moscow: BINOM. Laboratoriya znaniya. 223 p. (In Russian)

Plant Protection News, 2021, 104(4), p. 184–195

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15150>

Full-text review

INTRODUCTION TO MOLECULAR DIAGNOSTICS OF INSECTS

A.S. Ryabinin*, R.A. Bykov, V.K. Lapshina, A.A. Maslakova, M.A. Demenkova, Y.Y. Ilinsky

*corresponding author, e-mail: art@bionet.nsc.ru

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Insects play an important role in biocenoses due to their abundance and wide (cosmopolitan) distribution. Many insects are crop pests. An effective pest control could be realized in case of proper species identification, which is usually managed by morphological analysis. Molecular methods allow to deep study of many issues of insect biology. In particular, traditional approach can not ordinary identify a species at all stages of their life cycle, whereas molecular methods can it. This review covers a wide range of issues related to the molecular genetic analysis of insects. In the first section we consider the methods of fixation and storage of insect specimens, as well as their impact on DNA quality. Further, we provide general information on population study design. Various schemes of DNA extraction, examples of both express techniques and more thorough protocols for DNA extraction and their purification are provided. In addition, methods of DNA isolation that allow to preserve a specimen integrity for further morphological studies are considered. The methods of DNA quality control are described in detail, that is important for PCR analysis. The last section provides various methods of PCR analysis, that we exemplify by studies aimed to elucidate both fundamental issues and practical problems.

Keywords: PCR, insects, sample, DNA, primers, sequencing

Submitted: 10.07.2021

Accepted: 15.12.2021

ПОРАЖЕННОСТЬ КАРТОФЕЛЯ ВИРУСАМИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН И АКТИВНОСТЬ РИБОНУКЛЕАЗ

Р.М. Хайруллин^{1*}, Д.В. Гарифуллина², С.В. Веселова¹, Е.А. Черепанова¹, И.В. Максимов¹

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа

²ООО Научно-внедренческое предприятие «БашИнком», Уфа

* ответственный за переписку, e-mail: krm62@mail.ru

В работе представлены результаты иммуноферментного анализа (ИФА) наличия вирусов SBK, MBK, ХВК, YVK, ВСЛК в клубнях различных сортов картофеля, репродуцированных в 2019 г. на территории Республики Башкортостан. Обнаружены SBK, MBK, ХВК и YVK, вирус ВСЛК не выявлен. Наибольшее накопление вирусной инфекции SBK, MBK, ХВК наблюдали в образцах клубней раннеспелых сортов. Среднеранние и позднеспелые сорта чаще, чем раннеспелые, были поражены YVK, а ХВК у растений этих сортов не обнаружен. Оценка рибонуклеазной (РНКазной) активности в клубнях картофеля 14 сортов выявила зависимость этого показателя от генетической особенности сорта – скороспелости, независимо от почвенно-климатических условий выращивания. Между количеством частиц вирусов SBK, MBK и РНКазной активностью в клубнях среднеранних и позднеспелых сортов выявлена статистически значимая положительная корреляция ($P < 0.05$), тогда как при анализе клубней раннеспелых сортов, наоборот, при поражении MBK была выявлена отрицательная корреляция между этими показателями, а при поражении SBK корреляция была незначительной. Сделан вывод о том, что распространенность вирусов картофеля на территории Республики Башкортостан и активность РНКаз в проростках клубней зависят от сорта картофеля и вида вируса.

Ключевые слова: картофель, распространенность вирусов, скороспелость сорта, рибонуклеазы, Республика Башкортостан

Поступила в редакцию: 08.09.21

Принята к печати: 15.11.21

Введение

По значимости в питании населения Земли картофель (*Solanum tuberosum* L.) – третья культура после пшеницы и риса. При существенной доле картофеля в структуре продуктов питания населения особое значение приобретает качество семенного материала вследствие такой биологической особенности культуры, как сильное поражение вирусами, уменьшающее урожайность в некоторых случаях до 90% (Рогозина и др., 2016). Из 52 разновидностей вирусов, поражающих картофель, наиболее распространены 36, из которых на территории Российской Федерации наиболее вредоносными считаются пять. Это вирус скручивания листьев картофеля (ВСЛК, potato leaf roll virus, PLRV), Y-вирус картофеля (YVK, Potato virus Y, PVY), X-вирус картофеля (ХВК, Potato virus X, PVX); S-вирус картофеля (SBK, Potato virus S, PVS), M-вирус картофеля (MBK, Potato virus M, PVM).

Распространение как вирусных «моноинфекций», так и совместного поражения картофеля двумя и более видами вирусов зависит от многих факторов, среди которых можно выделить качество семенного материала, почвенно-климатические условия, повреждение насекомыми-вредителями.

Определенный вклад в устойчивость растений к вирусам вносит и сорт (Трифенова и др., 2018).

Показано полигенное наследование устойчивости картофеля к вирусам, определяемое активностью белков, участвующих в неспецифических защитных механизмах растений к болезням (Трифенова и др., 2018), например, рибонуклеаз (РНКаза). Поскольку большинство растительных вирусов относятся к РНК-вирусам, можно полагать, что активация РНКаз в растительной ткани должна приводить к деструкции вирусной чужеродной РНК.

В связи с этим, значительный научный и практический интерес представляет оценка видового состава и распространенности вирусов на посадках картофеля в разных почвенно-климатических зонах у различных сортов, а также выявление активности РНКаз в клубнях при поражении определенными вирусами. Целью работы являлось определение распространенности вирусной инфекции и видов вирусов в клубнях картофеля, репродуцированных в условиях Республики Башкортостан, а также оценка активности РНКаз в прорастающих клубнях сортов, различающихся по скороспелости при поражении наиболее распространенными вирусами

Материалы и методы

Наличие и видовой состав вирусов анализировали в клубнях картофеля, репродуцированного в 2019 г на территории Республики Башкортостан как в личных подсобных, так и общественных хозяйствах, общее число которых составило 24. Анализировали 32 образца, в каждом образце

насчитывалось по 30 клубней.

На территории региона по почвенно-климатическим характеристикам и уровню развития растениеводства условно выделяли 5 зон (рис.1): I – Зауральская, включающая Учалинский, Абзелиловский и Хайбуллинские районы;

II – Предуральская (Мелеузовский и Куюргазинский районы); III – Юго-Западная (Ермекеевский, Бижбулякский, Альшеевский, Шаранский, Туймазинский районы); IV – Центральная, включающая наиболее экономически развитые сельскохозяйственные районы: Буздякский, Чекамагушевский Давлекановский, Аургазинский, Кармаскалинский, Уфимский, Иглинский; V – Северо-восточная (Калтасинский, Балтачевский, Татышлинский, Белокаятский, Караидельский).

Вирусы SBK, MBK, ХВК, YBK и ВСЛК в клубнях картофеля определяли иммуноферментным анализом (ИФА) с использованием наборов DAS-ELISA Complete kits, согласно протоколу фирмы поставщика (Bioreba, Швейцария), сканируя планшеты прибором УНИПЛАН АИФР-01 при длине волны 405 нм (Пикон, Россия). Количество вирусных частиц в образцах выражали в баллах, где 5 – соответствие оптической плотности образца в ИФА положительному контролю в наборе реагентов при разведении его по объему 1:1 буфером; баллы 4, 3, 2, 1 – оптическая плотность (=количество вирусов), соответственно, при разведении положительного контроля в соотношении с буфером 1:2, 1:10, 1:100, более чем 1:100, и 0 – отсутствие вируса в образце. Балл 0 соответствовал среднему значению оптической плотности (ОП) образцов здоровых растений (отрицательный контроль, Bioreba, Швейцария).

Активность РНКаз анализировали по модифицированному методу, основанному на методе Anfinsen с соавторами (1954). Клубни проращивали в темноте при 22–25 °С.

Результаты

Постоянный мониторинг вирусных болезней картофеля необходим для оценки распространения и степени поражения растений с целью разработки стратегии защиты от вирусов и потенциальных векторов – переносчиков инфекции (Фоминых и др., 2017). ИФА наличия вирусов в клубнях картофеля показал, что SBK и MBK встречались во всех пяти зонах, а ВСЛК, напротив, отсутствовал (рис. 1). Частота встречаемости SBK и MBK по Республике составила 87% и 78%, соответственно, при балле накопления вирусов в тканях картофеля 2.8 и 2.2 (рис. 1). В хозяйствах степной части Предуральской зоны (II) инфицированными SBK и MBK оказались все образцы, а в хозяйствах Юго-западной зоны (III) также все образцы оказались инфицированными SBK, при этом наблюдали высокий балл накопления вируса (рис. 1). В образцах, отобранных из Центральной (IV) и Зауральской степной (I) зон также преобладали SBK и MBK с частотой встречаемости более 80% (рис. 1). 71% образцов клубней, выращенных в хозяйствах Северо-восточной зоны (V), были инфицированы SBK, и 57% – MBK. В клубнях из этих районов балл накопления вирусов был меньше, чем в клубнях из других зон (рис. 1). О существенной распространенности на посадках картофеля SBK (46.6%) и MBK (84.3%) на территориях, близких к южной части Республики Башкортостан сообщали и другие исследователи (Alexandrova et al., 2018).

Частота встречаемости ХВК и YBK по республике составляла 12% и 28%, соответственно, при балле накопления 0.5 и 0.8 (рис. 1). Интересно, что в образцах из Предуральской зоны (II) ХВК и YBK методом ИФА не обнаружены (рис. 1). В образцах картофеля, репродуцированного в хозяйствах Зауральской степной зоны (I), а также районах Юго-Западной зоны (III), обнаружен YBK, но не

Навеску растительного материала из средней части ростков длиной 3–5 см гомогенизировали в ледяном 0.05 М трис – HCl буфере pH 8.5 в соотношении 1:5 блендером VagMixer 400W (Interscience, France). pH растворов измеряли pH-метром HI 83141 (Hanna Instruments, Romania). Фермент экстрагировали 15 мин при 4 °С, затем гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 12000 g на центрифуге Eppendorf 5415R (Германия). Затем к 1 мл раствора, содержащего 50 мкг/мл дрожжевой РНК Torula Yeast (Sigma, США) в том же буфере, добавляли 10 мкл супернатанта. Реакция развивалась при 37 °С. Через 5 мин и через 65 мин оптическую плотность в реакционном растворе измеряли на спектрофотометре UNICO 2800 (UNICO, США) при 260 нм относительно контроля (реакционная смесь без растительного экстракта). Для определения скорости ферментативной дегградации РНК за единицу нуклеазной активности (Е) принимали количество фермента, вызывающего увеличение адсорбции на оптическую единицу за 1 ч в пересчете на 1 мг белка. Концентрацию белка измеряли по методу Бредфорд.

На рисунках и в таблицах приведены средние арифметические значения и их доверительные интервалы, рассчитанные по стандартным ошибкам. Достоверность различий между вариантами опыта оценивали по *t*-критерию Стьюдента при доверительном уровне $p \leq 0.05$. Вычисление коэффициента корреляции и регрессионный анализ проводили с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

ХВК. Картофель, выращенный в Центральной (IV) и Северо-восточной (V) зонах, оказался инфицирован как YBK, так и ХВК (рис. 1). Таким образом, в образцах картофеля, выращенных в хозяйствах Северо-восточной и Центральной зон, включающей наиболее экономически развитые сельскохозяйственные районы, присутствовали все четыре вируса (SBK, MBK, ХВК и YBK) из пяти определяемых (рис. 1). На фоне высокой инфицированности картофеля SBK, MBK, клубни из Предуральской степной и Юго-Западной зоны характеризовались отсутствием ХВК и YBK.

Анализ частоты встречаемости «моноинфекции» и совместного заражения двумя и более вирусами выявил, что только одним из вирусов (SBK, MBK, ХВК, YBK) были поражены 24.6% образцов (табл. 1).

Из них почти половина была заражена MBK, несколько реже – SBK, а встречаемость ХВК и YBK составила по 2.7% каждого (табл. 1). До 61.6% клубней картофеля были инфицированы двумя вирусами. В 42.5% клубней одновременно обнаружили SBK и MBK (табл. 1). С высокой частотой встречались образцы с двойной инфекцией SBK+YBK, несколько реже – SBK+ХВК и MBK+YBK. У 2.8% образцов были обнаружены три вируса в сочетании SBK+MBK+YBK и SBK+MBK+ХВК, а у 4.1%, обнаружили четыре вируса (SBK+MBK+ХВК+YBK) (табл. 1). Только у 6.9% изученных образцов картофеля не было обнаружено вирусов.

В 2013–2017 гг. в Актюбинской области Республики Казахстан, встречаемость комбинации инфекции SBK+MBK в растениях составляла до 26.89%, MBK+YBK – до 10.08%, SBK+MBK+YBK – до 7.56% (Alexandrova et al., 2018). Комплексную многовидовую вирусную инфекцию растений картофеля наблюдали также в Северо-Западных

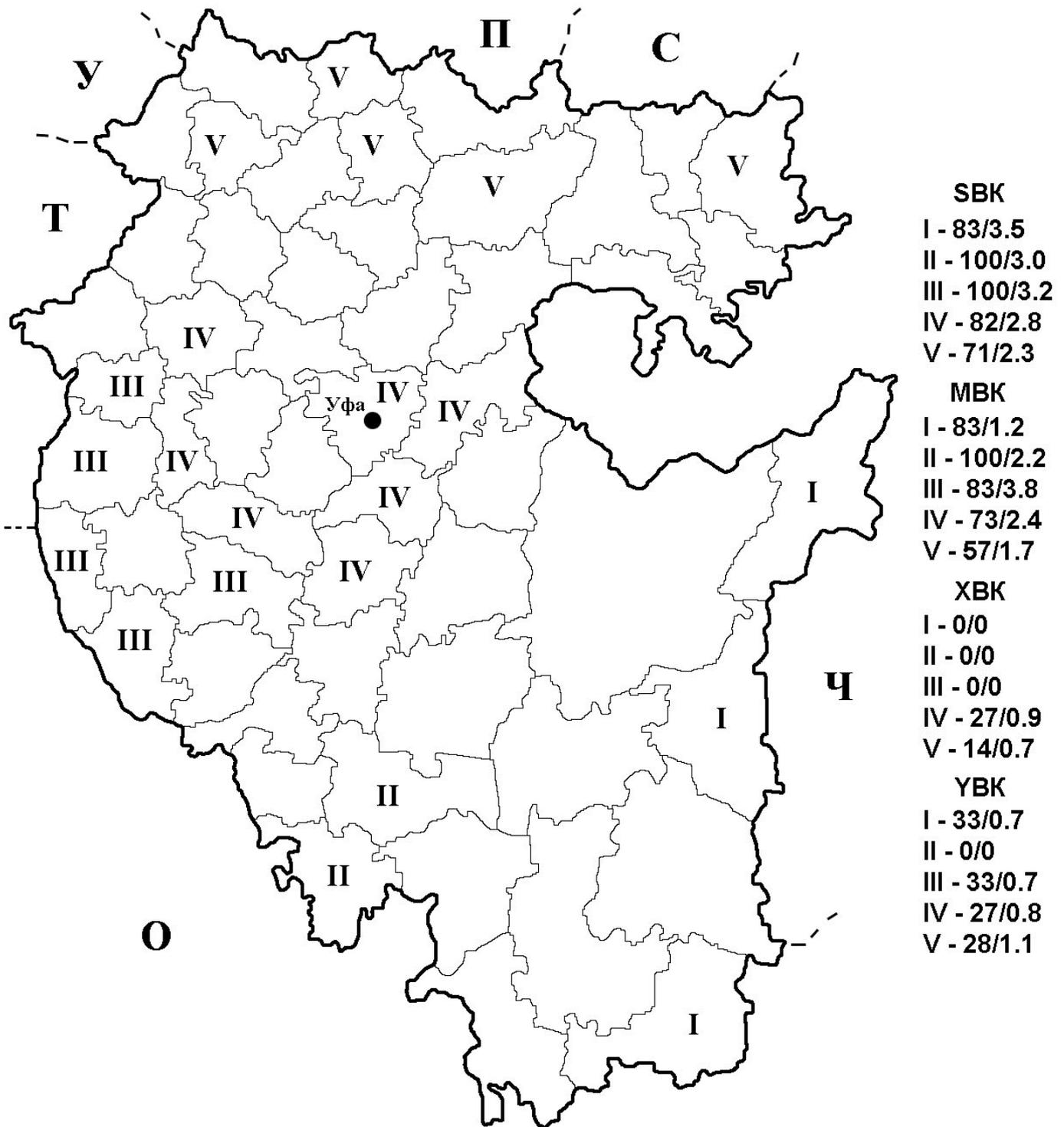


Рисунок 1. Схематическая карта точек отбора образцов клубней картофеля и распределение их пораженности вирусами в разных почвенно-климатических зонах. Обозначения номеров: I – Зауральская степная зона; II – Предуральская степная зона; III – Юго-Западная зона; IV – Центральная зона; V – Северо-восточная зона. Буквами обозначены пограничные субъекты Российской Федерации: О – Оренбургская область, П – Пермский край, С – Свердловская область, Т – Республика Татарстан, У – Республика Удмуртия, Ч – Челябинская область. Цифрами обозначены: числитель – частота встречаемости вируса в %, знаменатель – балл накопления

Figure 1. Schematic map of the sampling points of potato tubers and the distribution of their infection with viruses in several soil-climatic zones. Number designations: I – Trans-Ural steppe zone; II – Pre-Ural steppe zone; III – South-Western zone; IV – Central zone; V – North-eastern zone.

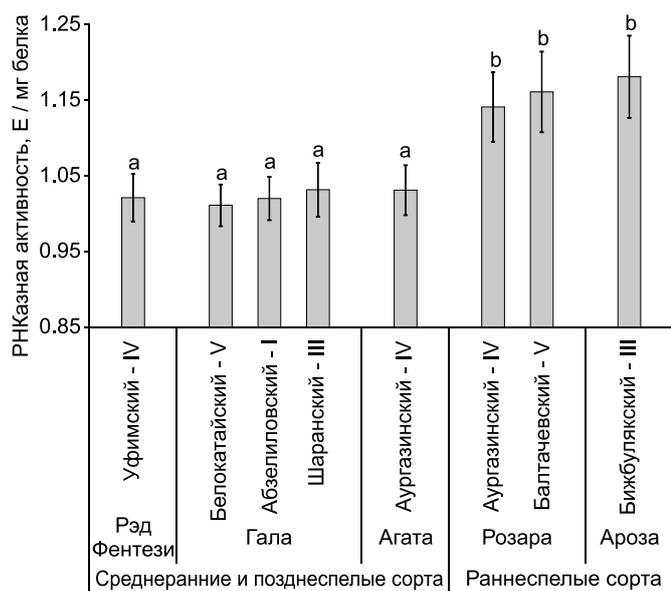
The letters indicate the border subjects of the Russian Federation: O – Orenburg Region, П – Perm Krai, С – Sverdlovsk Region, Т – the Republic of Tatarstan, У – the Republic of Udmurtia, Ч – Chelyabinsk region. Numerator is the frequency of occurrence of virus in %, denominator is virus accumulation score

Таблица 1. Частота встречаемости сочетаний вирусной инфекции в клубнях картофеля

Сочетания вирусов	Частота встречаемости, %
Без заражения	6.9
Монозаражение, в т.ч.:	24.6
SBK	6.9
MBK	12.3
YBK	2.7
XBK	2.7
Два вируса, в т.ч.:	61.6
SBK+MBK	42.5
SBK+YBK	12.3
MBK+YBK	2.7
SBK+XBK	4.1
Три вируса, в т.ч.:	2.8
SBK+MBK+YBK	1.4
SBK+MBK+XBK	1.4
Четыре вируса, в т.ч.	4.1
SBK+MBK+XBK+YBK	4.1

областях России (Фоминых и др., 2017), а также в коллекционном фонде *Solanum* spp. из Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (Рогозина и др., 2016; Трускинов, Ситников, 2019).

В литературе имеются сведения о возможной связи устойчивости растений к вирусной инфекции с активностью собственно растительной или рекомбинантной РНКазы в трансгенном растении (Трифонов и др., 2018; Yang et al., 2019). Поэтому мы провели анализ возможной связи между пораженностью картофеля наиболее распространенными вирусами SBK и MBK при моноинфекции, РНКазной активностью в прорастающих клубнях разных по скороспелости сортов растений: раннеспелых (сорта Розара, Ароза, Винета, Жуковский ранний, Импала, Удача) и среднеранних и позднеспелых (сорта Агата, Браво, Гала, Лабелла, Маргарита, Невский, Рэд Скарлет, Рэд Фэнтези). Раннеспелые и поздние сорта картофеля различались по активности РНКаз в клубнях, но внутри каждой группы

**Рисунок 2.** Рибонуклеазная активность в здоровых клубнях картофеля, выращенных в разных почвенно-климатических зонах. Обозначения почвенно-климатических зон см. рис. 1**Table 1.** Frequency of different combinations of viruses in potato tubers

Viral combinations	Frequency, %
No infection	6.9
One virus, including:	24.6
PVS	6.9
PVM	12.3
PVY	2.7
PVX	2.7
Two viruses, including:	61.6
PVS+PVM	42.5
PVS+PVY	12.3
PVM+PVY	2.7
PVS+PVX	4.1
Three viruses, including:	2.8
PVS+PVM+PVY	1.4
PVS+PVM+PVY	1.4
Four viruses, including:	4.1
PVS+PVM+PVX+PVY	4.1

сорт, выращенных в разных почвенно-климатических условиях, различий в активности РНКаз не обнаружено (рис. 2).

Анализ наличия наиболее распространенных в клубнях картофеля вирусов SBK, MBK выявил, что наибольшее накопление инфекции наблюдали в образцах раннеспелых сортов (табл. 2). В клубнях сортов обеих групп больше накапливалось частиц вируса SBK.

Выявлена статистически значимая положительная корреляция (p -value<0.05) у среднеранних и позднеспелых сортов между количеством частиц вирусов SBK или MBK и РНКазной активностью в клубнях (табл. 2). Чем больше был балл накопления вирусов, тем больше была активность РНКазы. При анализе клубней раннеспелых, пораженных SBK, достоверной корреляции между этими показателями не было, а при поражении MBK была выявлена отрицательная корреляция – чем больше был балл накопления вирусных частиц, тем меньше была активность РНКаз.

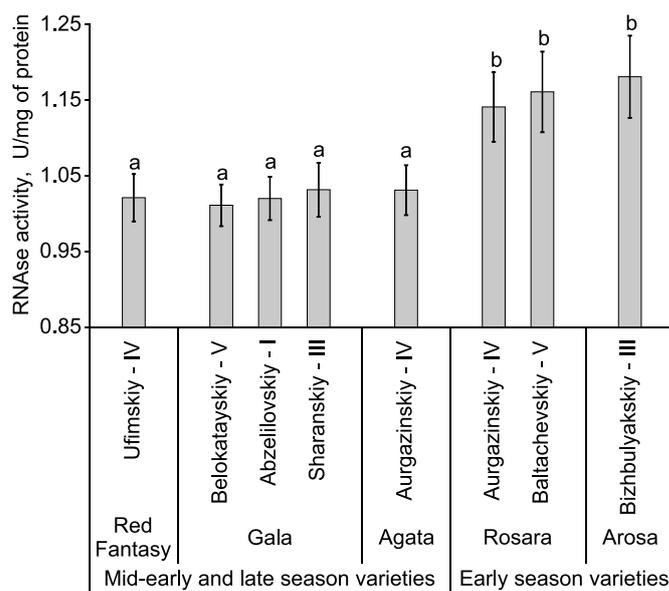
**Figure 2.** Ribonuclease activity in healthy potato tubers grown in different soil and climatic zones. For the designations of soil and climatic zones, see Fig. 1

Таблица 2. Корреляция между активностью РНКаз в ростках клубней картофеля и содержанием вирусных частиц

Инфекция	Скорость созревания сортов	Балл накопления инфекции	РНК-азная активность, Е / мг белка ± ст. ош.	коэффициент корреляции Пирсона R	значимость
Без заражения	Раннеспелые	-	1.16±0.03	-	-
	Среднеранние и позднеспелые	-	1.02±0.01	-	-
SBK	Раннеспелые	3.43	1.24 ± 0.08	0.266	0.0068
	Среднеранние и позднеспелые	2.00	1.39 ± 0.12	0.659	0.0003
MBK	Раннеспелые	2.71	1.04 ± 0.05	-0.744	0.0094
	Среднеранние и позднеспелые	1.00	1.56 ± 0.06	0.975	0.0002

Table 2. Correlation between the activity of RNase in potato tuber sprouts and the amount of viral particles

Infection	Maturation speed of the varieties	Infection score	RNA activity, E/mg of protein ± stand. err.	Pearson's correlation coefficient R	p-value
No infection	Early	-	1.16±0.03	-	-
	Mid-early and late	-	1.02±0.01	-	-
PVS	Early	3.43	1.24 ± 0.08	0.26646	0.006890
	Mid-early and late	2.00	1.39 ± 0.12	0.65943	0.000277
PVM	Early	2.71	1.04 ± 0.05	-0.74376	0.009402
	Mid-early and late	1.00	1.56 ± 0.06	0.97480	0.000191

Обсуждение

Результаты анализа распространенности вирусных болезней в клубнях картофеля выявили, что чаще всего растения заражаются вирусами SBK и MBK, которые встречались практически повсеместно в Башкортостане с частотой 87% и 78%, соответственно. С меньшей частотой, 28% и 12%, соответственно, в клубнях обнаружены вирусы YBK и XBK. Поражение картофеля вирусом XBK можно охарактеризовать как более специфичное для хозяйств, расположенных на северо-востоке и севере республики. В этой же зоне характерным являлось присутствие всех четырех вирусов (SBK, MBK, YBK, XBK) из пяти определяемых. Во всех образцах клубней картофеля методом ИФА вирус ВСЛК не выявлен.

Только одним из четырех указанных выше вирусов была инфицирована лишь четверть образцов клубней, из которых почти у 50% встречался вирус MBK. Можно отметить, что характерным для растений картофеля, возделываемого в республике, является поражение двумя вирусами (61.6% образцов), из которых чаще всего (42.5%) встречались вирусы SBK и MBK (табл. 1). Наличие трех или четырех вирусов одновременно выявлено у 2.8% и 4.1% образцов. Таким образом, для оценки качества семенного материала картофеля в республике в первую очередь необходимо использовать тест-системы для обнаружения вирусов SBK и MBK, а для определения ВСЛК метод ИФА может быть недостаточным, в связи с чем следует оценивать наличие этого вируса методом RT-PCR.

Известно, что РНКазы – ферменты, обладающие нуклеазной активностью, активно участвующие в защите растений от патогенов (Трифонов и др., 2018). Однако о возможной непосредственной связи РНКазной активности растений с их антивирусной активностью известно мало. Согласно данным работы (Трифонов и др., 2018), между активностью РНКаз и пораженностью картофеля вирусной инфекцией существует довольно сильная положительная связь ($r = 0.7590$, $p = 0.001$). В связи с интересом к выявлению маркеров устойчивости картофеля к вирусной инфекции и оценке участия определенных ферментных систем в защитных реакциях растений к этим

фитопатогенам был проведен анализ активности РНКаз в прорастающих клубнях картофеля. Принципиальным результатом этих исследований явилось выявление различий в характере связи между активностью этих ферментов и баллом накопления вирусов в тканях проростков. Так, если для клубней среднеранних и позднеспелых сортов коэффициент корреляции был положительным, то для ранних сортов, в случае анализа поражения вирусом SBK корреляция была не значимая, а при поражении вирусом MBK – отрицательная. При этом балл накопления одних и тех же вирусов в тканях проростков раннеспелых сортов был больше, в сравнении с среднеранними и позднеспелыми сортами. Эти данные не позволяют однозначно связать показатель активности РНКаз в прорастающих клубнях с устойчивостью растений к вирусной инфекции, вызванной SBK или MBK. В то же время удалось выявить, что активность РНКаз в клубнях картофеля не зависит от почвенно-климатических условий выращивания, а является признаком, характерным для скорости созревания растений. Не исключено, что при одинаковых сроках прорастания клубней картофеля, более раннее прорастание глазков, формирование сосудистой системы позволяет вирусным частицам быстрее размножиться и распространиться в тканях, тогда как у позднеспелых сортов это процесс тормозится физиологией роста растения-хозяина. Описанные нами различия между раннеспелыми и среднеранними и позднеспелыми сортами картофеля предполагают наличие разных стратегий формирования защитной системы растений с участием РНКаз и, вероятно, других белков и ферментов. Вместе с этим, при разработке препаратов, содержащих РНКазы или способных индуцировать активность собственных рибонуклеаз в растениях, следует учитывать такую генетическую особенность сортов, как сроки вегетации (созревания).

Исследование выполнено в рамках совместного международного гранта РФФИ и Департамента науки и техники (DST) правительства Индии № 19-46-02004 с использованием оборудования ЦКП «Агидель» и уникальной научной установки «Кодинк».

Библиографический список (References)

- Рогозина ЕВ, Мироненко НВ, Афанасенко ОС, Мацухито Ю (2016) Широко распространенные и потенциально опасные для российского агропроизводства возбудители вирусных болезней картофеля. *Вестник защиты растений* 4(90):24–33
- Трифоновна ЕА, Ибрагимова СМ, Волкова ОА, Шумный ВК, Кочетов АВ (2018) Рибонуклеазная активность как потенциальный новый маркер устойчивости к фитопатогенам у картофеля. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 22(8):987–991. <https://doi.org/10.18699/VJ18.441>
- Anfinsen CB, Redfield RR, Choate WL, Page J et al (1954) Studies on the Gross Structure, Cross-Linkages, and Terminal Sequences in Ribonuclease. *J Biol Chem* 207(1):201–210
- Фоминых ТС, Иванова ГП, Медведева КД (2017) Мониторинг вирусных болезней картофеля в Псковской и Астраханской областях России. *Вестник защиты растений* 94(4):29–34
- Alexandrova AM, Karpova OV, Nargilova RM, Kryldakov RV et al (2018) Distribution of potato (*Solanum tuberosum*) viruses in Kazakhstan. *Int J Biol Chem* 11(1):33–40. <https://doi.org/10.26577/ijbch-2018-1-311>
- Трускинов ЭВ, Ситников МН (2019) Особенности изучения и поддержания коллекции картофеля на фоне вирусных и вирусоподобных заболеваний. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции 180(4):75–80. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-4-75-80>
- Yang X, Niu L, Zhang W, He H et al (2019) Increased multiple virus resistance in transgenic soybean overexpressing the double-strand RNA-specific ribonuclease gene PAC1. *Transgenic Res* 28(1):129–140. <https://doi.org/10.1007/s11248-018-0108-8>

Translation of Russian References

- Rogozina EV, Mironenko NV, Afanasenko OS, Matsushita Yosuke (2016) [Widespread and potentially dangerous to russian agriculture causative agents of viral diseases of potato]. *Vestnik zashchity rasteniy* (90):24–33 (In Russian)
- Trifonova EA, Ibragimova SM, Volkova OA, Shumny VK et al (2018) [Ribonuclease activity as a new prospective disease resistance marker in potato]. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii* 22(8):987–991 (In Russian) <https://doi.org/10.18699/VJ18.441>
- Fominykh TS, Ivanova GP, Medvedeva KD (2017) [Monitoring of viral diseases of potatoes in the Pskov and Astrakhan regions of Russia]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4(94):29–34 (In Russian)
- Truskinov EV, Sitnikov MN (2019) [Specific features of the study and maintenance of a potato collection threatened by viruses and virus-like diseases]. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selekcii* 180(4):75–80 (In Russian) <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2019-4-75-80>

Plant Protection News, 2021, 104(4), p. 196–201

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15075>

Full-text article

POTATO INFECTION WITH VIRUSES IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN AND RIBONUCLEASE ACTIVITY IN TUBERS

R.M. Khairullin^{1*}, D.V. Garifullina², S.V. Veselova¹, E.A. Cherepanova¹, I.V. Maksimov¹

¹*Institute of Biochemistry and Genetics – Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia*

²*JSC “BashInkom”, Innovation & Research Enterprise Ltd, Ufa, Russia*

*corresponding author; e-mail: krm62@mail.ru

The paper presents the results of enzyme immunoassay (ELISA) of the presence of potato viruses S (PVS), M (PVM), Y (PVY), X (PVX), and Potato Leaf Roll Virus (PLRV) in tubers of various potato varieties grown in 2019 in the Republic of Bashkortostan. PVS, PVM, PVY, PVX were detected, the VSLK virus was not detected. The greatest infection with PVS, PVM, and PVX was observed in samples of tubers of early-maturing varieties. Tubers of mid-early and late-maturing varieties were more often affected by PVY than early-maturing ones, and PVX was not detected in plants of those varieties. Ribonuclease (RNase) activity in potato tubers of 14 varieties depended on the earliness of the variety, regardless of the soil and climatic conditions. A statistically significant positive correlation ($P < 0.05$) was found between the abundance of PVS and PVM viruses and RNase activity in tubers of medium-early and late-maturing varieties, whereas, on the contrary, a negative correlation between PVM and RNase activity was revealed when analyzing tubers of early-maturing varieties. It is concluded that the prevalence of potato viruses in the territory of the Republic of Bashkortostan and the activity of RNase in tuber seedlings depend on the potato variety and the type of viruses.

Keywords: Potato, virus prevalence, variety maturity, ribonucleases, Republic of Bashkortostan

Submitted: 08.09.21

Accepted: 15.11.21

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЗАЩИТЫ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ БИОПРЕПАРАТАМИ И ФУНГИЦИДАМИ В ЛЕСОСТЕПИ ПРИОБЬЯ: I. ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ В ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ ПОГОДНЫХ УСЛОВИЯХ

Н.Г. Власенко^{1*}, В.А. Павлюшин², О.И. Теплякова¹, О.В. Кулагин¹, Д.О. Морозов³

¹Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирская обл., Краснообск

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

³ООО «АгроБиоТехнология», Москва

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

В работе представлены данные по сравнительному испытанию химических, грибных и бактериальных фунгицидов, а также их роли в ограничении вредоносности основных болезней яровой пшеницы. Исследования проводили на черноземе выщелоченном лесостепи Приобья Новосибирской области. Показано, что внесение Стернифага, СП снижает развитие корневых гнилей в конце вегетации на 48%, что сопоставимо с действием химического протравителя Скарлет, МЭ (имазалил+тебуконазол) и немного уступает действию грибного препарата Трихоцин, СП с бактериальным препаратом Витаплан, СП (55%). Предпосевная обработка семян эффективно снижала развитие листовых инфекций: Скарлет, МЭ подавлял развитие септориоза на 54%, Скарлет, МЭ+Витаплан, СП – мучнистую росу на 69%, Трихоцин, СП+Витаплан, СП – бурую ржавчину на 74%. Обработка посевов фунгицидом Титул 390, ККР снизила развитие этих болезней на 60, 81 и 85%, соответственно. Алирин-Б, Ж с Трихоцином, СП на 64% подавляли бурую ржавчину. Целлюлозолитическая активность почвы в результате действия биопрепаратов и Стернифага, СП увеличивалась в 1.3–1.9 раза по сравнению с контролем, количество растительных остатков уменьшилось в 2.4 и 1.9 раза через 15 и 30 дней после применения. Наибольшую прибавку урожая обеспечили химические фунгициды – 0.7 т/га, им не уступало использование Алирина-Б, Ж с Витапланом, СП на фоне протравливания фунгицидом Скарлет, МЭ.

Ключевые слова: болезни яровой пшеницы, защита растений, вредоносность, целлюлозолитическая активность, растительные остатки, урожайность

Поступила в редакцию: 09.06.2021

Принята к печати: 03.12.2021

Экологическая безопасность технологий возделывания сельскохозяйственных культур предусматривает проведение защитных мероприятий, не наносящих вреда окружающей среде, с сохранением функций ее саморегулирования и быстрого восстановления (Санин, 2017), и прежде всего – почвенного плодородия (Кирюшин, 2011). В настоящее время актуальны экологически и экономически обоснованные исследования по поиску высокоэффективных биофунгицидов, ускоряющих рост растений, способных контролировать фитосанитарное состояние посевов и оказывать прямое или опосредованное положительное воздействие на биогенность почвы (Alabouvette et al., 2006; O'Brien, 2017; Tariq et al., 2020). Обладающие данными свойствами препараты, наравне с химическими, будут востребованы в современных технологиях интенсивного растениеводства с включением адаптивно-интегрированной системы защиты растений, которая должна быть многовариантной и перестраиваемой (Санин, 2017, Санин, 2020) в зависимости от уровня интенсивности технологического процесса.

Для достижения гарантированного уровня количества и качества урожая, а также экологической безопасности в агроэкосистемах, ключевое значение приобретают многофакторный учет и технологическая реализация набора элементов в фитосанитарной оптимизации агроэкосистем (Павлюшин и др., 2020).

Наиболее перспективны для подобного использования грибы р. *Trichoderma* – основа биопрепаратов Глиокладин, Стернифаг, Триходермин Нова и др.

Существует несколько механизмов для объяснения положительного воздействия *Trichoderma* spp. на растение-хозяина. Одним из них является большое разнообразие производимых метаболитов. Они не только непосредственно подавляют рост и патогенную активность паразитов, но и повышают сопротивляемость растений болезням. Запуск системы защиты растения-хозяина обеспечивает противодействие заболеванию и компенсаторный вегетативный рост за счет увеличения роста корней и побегов (Benítez et al., 2004, Vinale et al., 2009, 2012, Смирнова и др., 2016). Обработка семян *Trichoderma* spp. запускает высвобождение и (или) выработку ферментов и фитогормонов, которые повышают всхожесть семян и дальнейший рост всходов. Прорастание семян увеличивается за счет непосредственного влияния *Trichoderma* spp. – активации ферментов и фитогормонов, и, косвенного, – изменения микрофлоры ризосферы и доступности питательных веществ в почве (Голованова и др., 2009, Singh et al., 2018). В условиях абиотических и биотических стрессов (осмотический, солевой, неоптимальные температуры, плохое качество семян, вызванное их старением) *T. harzianum* повышает интенсивность и равномерность прорастания семян, увеличивает жизнеспособность проростков и, снимая

стресс, вызывает физиологическую защиту растения-хозяина (Mastouri et al., 2010). В связи с интенсивной эксплуатацией почвы и повышенным внесением минеральных удобрений деградация растительных остатков в почве с годами становится все более сложной и медленной. Это нарушает структуру почвы и баланс питательных веществ и приводит к снижению ее плодородия. Для решения этой проблемы могут быть использованы микроорганизмы, в том числе грибы рода *Trichoderma*, способные разлагать растительные остатки в почве. Исследованиями установлено, что применение биопрепаратов-деструкторов ускоряет процессы минерализации и гумификации соломы в почве, снижает проявление ее фитотоксичности, увеличивает урожайность последующих культур (Cumagun et al., 2009, Русакова, 2018, Siva et al., 2019).

Активными продуцентами биологически активных веществ (аминокислот, различных ферментов, антибиотиков,

других веществ с фунгицидной активностью) являются бактерии р. *Bacillus* и *Pseudomonas*. На их основе созданы такие препараты как Споробактерин, Бактофит, Фитоспорин, Алирин-Б, Гамаир, Планриз, Псевдобактерин-2, Агат-25К, Бинорам, Биовайс и др. Биопрепараты используются как для предпосевной обработки семян, так и для обработок вегетирующих растений. Они показали хорошую эффективность против корневых гнилей и листовых болезней (Санин и др., 2012, Доронин и др., 2017, Власова и др., 2019).

Таким образом, цель исследований заключалась в сравнительной оценке эффективности использования биопрепаратов на основе *Trichoderma harzianum* и *Bacillus subtilis* и химических фунгицидов для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения урожайности пшеницы в условиях лесостепной зоны Приобья.

Материалы и методы

Исследования проведены в 2020 г. на полях стационара СибНИИЗиХ СФНЦА РАН, расположенном в лесостепной зоне Приобья. Почва участка – чернозем выщелоченный, среднесуглинистый.

Метеоданные вегетационного периода 2020 года существенно отличались от среднееголетних значений по температурному режиму и количеству выпавших осадков. Май текущего сезона особенно выделялся по температуре и режиму увлажнения. Температура воздуха в этом месяце превысила среднееголетние значения на 6.2 °С, а количество осадков превысило норму в 1.5 раза. В июне температура воздуха была на уровне среднееголетних значений, а приход атмосферной влаги в среднем за месяц был ниже нормы в 2.4 раза. В июле температурный режим превысил среднееголетние показатели на 0.6 °С, а осадков выпало в 1.2 раза больше нормы. Август был достаточно теплым: температура воздуха превысила среднееголетние значения на 2.8 °С. Приход атмосферной влаги в первой декаде месяца был в 1.7 раза ниже нормы, а во второй декаде осадков выпало в 2.2 больше среднееголетних значений. При этом в конце второй декады, 18.08., выпало 26.0 мм (из 43.0 мм) в виде сильного дождя и града.

Опыт размещали второй культурой после пара по зерновому предшественнику, высевали яровую пшеницу сорта Новосибирская 31. Основную обработку осенью проводили стойками СибИМЭ на 22–22 см, весной – закрытие влаги боронами БЗС-1, предпосевную обработку – культиватором «Степняк» на глубину заделки семян. Под предпосевную культивацию вносили удобрения из расчета 90 кг д.в./га азота и 30 кг д.в./га фосфора. Посев осуществляли 14 мая сеялкой СЗС-2,1 с анкерными сошниками с нормой высева пшеницы 6 млн. всхожих зерен/га.

В опыте изучали следующие факторы:

А – протравливание семян:

1. Контроль (без протравливания);
2. Трихоцин, СП (20 г/т) + Витаплан, СП (20 г/т);
3. Скарлет, МЭ (0.2 л/т) + Витаплан, СП (20 г/т);
4. Скарлет, МЭ (0.4 л/т);

В – фунгицидная обработка по вегетации и управление разложением растительных остатков, варианты этих факторов были заложены методом расщепленных делянок

для получения сочетания всех изучаемых факторов (Доспехов, 1985):

1. Контроль (без обработки);
2. Титул 390, ККР в фазе флаг лист – начало колошения, 0.26 л/га;
3. Алирин Б, Ж в кушение, 2.0 л/га + Витаплан, СП флаг лист – начало колошения, 40 г/га;
4. Алирин Б, Ж в кушение, 2.0 л/га + Трихоцин, СП флаг лист – начало колошения, 40 г/га;
5. Стернифаг, СП опрыскивание стерни до посева, 80 г/га + Алирин Б, Ж в кушение, 2 л/га + Витаплан, СП флаг лист – начало колошения, 40 г/га;
6. Стернифаг, СП опрыскивание стерни до посева 80 г/га + Алирин Б, Ж в кушение, 2 л/га + Трихоцин, СП флаг лист – начало колошения, 40 г/га. Опыт закладывали в 3-х кратном повторении.

Данная схема эксперимента направлена на подбор эффективного сочетания препаратов с различными механизмами фунгицидной, антагонистической и целлюлолитической активности, что повышает уровень гарантированной защиты пшеницы и позволяет уменьшить количество обработок по вегетации. Исследования эффективности препаратов, применяемых по отдельности, проводились ранее в многочисленных исследованиях, в связи с чем в настоящей работе некоторые обработки одиночными препаратами исключены с целью сокращения количества вариантов.

Характеристика препаратов. Скарлет, МЭ (имазалил 100 г/л+тебуконазол 60 г/л), Алирин Б, Ж (*Bacillus subtilis*) штамм В-10 ВИЗР, титр не менее 1×10^9 КОЕ/мл, Витаплан, СП (*Bacillus subtilis*), штамм ВКМ – В – 2604D титр 1×10^{10} КОЕ/г + (*Bacillus subtilis*), штамм ВКМ – В – 2605D титр 1×10^{10} КОЕ/г, Трихоцин, СП (*Trichoderma harzianum*), штамм Г-30, титр 1×10^{10} КОЕ/г, Стернифаг, СП (*Trichoderma harzianum*), штамм ВК – 4099D, титр 1×10^{10} КОЕ/г.

Протравливание проводили с увлажнением семян, расход рабочего раствора – 10 л/т. Площадь опытной делянки 24 м², каждого протравителя – 432 м². Обработку делянок препаратом Стернифаг, СП (80 г/га) проводили ручным опрыскивателем, расход рабочего раствора 200 л/га,

площадь обработки составила 576 м². Площадь варианта по фунгицидной обработке составила – 288 м².

В период вегетации против однодольных и двудольных сорняков проводили фоновую обработку баковой смесью гербицидов Аксилал, КЭ (1.0 л/га) + Примадонна, СЭ (0.4 л/га) + Гекстар, ВДГ (10 г/га).

Определение общей биологической активности почвы осуществляли стандартным универсальным аппликационным методом по интенсивности разложения клетчатки в полевых и лабораторных условиях, отражающим последнее действие абиотических и антропогенных факторов в пространстве и времени (Гаврилова и др., 2019, Овчинникова и др., 2009). В полевых условиях капроновые мешочки с целлюлозосодержащим материалом, закрепленном на стерильном стекле (4 повторности × 1 учет × 2 точки/делянку) вносили в почвенный разрез ризосферного слоя в фазе полных всходов, плотно примыкая их к корням растений. Для проведения лабораторных экспериментов методом почвенных пластинок отбирали пробы ризосферного слоя почвы из соответствующих вариантов полевого опыта. Время экспозиции целлюлозосодержащего материала на почвенных пластинках составил 30 суток; и разрезах в

полевых условиях – 30, 60, 90 суток. Уровень биологической активности почвы определяли по потере массы целлюлозосодержащего материала.

Растительные остатки из почвы слоя 0–10 см выделяли 28.05.2020 и 15.06.2020 из средней пробы почвы под посевом пшеницы без внесения и с внесением Стернифага согласно ГОСТ 23740-2016. Влажность почвы определяли согласно ГОСТ 28268-89.

Учет развития обыкновенной корневой гнили на растениях проводили в фазы кущения пшеницы и молочно-восковой спелости зерна дифференцированно по органам (Торопова и др., 2012), оценку пораженности посевов листовостеблевыми инфекциями (бурая ржавчина, септориоз, мучнистая роса) – в фазе налива зерна (Санин и др., 2002). Урожайность пшеницы учитывалась прямым комбайнированием, урожай семян приводили к 100%-й чистоте и 14%-й влажности. Математическую обработку данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ СНЕДЕКОР для расчета средних значений, ошибки средней, НСР₀₅, сравнение выборок по критерию U – Манна-Уитни и t- критерию Стьюдента (Сорокин, 2012).

Результаты и обсуждение

Учеты развития корневых гнилей показали, что пораженность растений в фазе кущения была невысокой. В эту фазу развития растений наибольшая эффективность подавления болезни отмечена при обработке семян химическим протравителем, а его половинная норма с биологическим препаратом снизила индекс развития болезни на 53% по сравнению с контролем. Внесение Стернифага и обработка семян биопрепаратами практически не влияли на развитие инфекции (табл. 1).

Однако к фазе молочно-восковой спелости зерна там, где в почву вносили Стернифаг, пораженность растений корневой гнилью снизилась почти наполовину, что сопоставимо с действием химического протравителя, его смеси с биологическим препаратом и немного уступает

применению Трихоцина с Витапланом. Таким образом, химический препарат эффективнее действует на начальных этапах развития пшеницы, в то время как биопрепараты более пролонгированно защищают растения.

Рассматривая фитосанитарную ситуацию в отношении болезней листьев, следует отметить, что предпосевная обработка семян снижала развитие всех основных заболеваний – септориоза, мучнистой росы и ржавчины. Против септориоза наиболее эффективным был Скарлет (снижение развития болезни на 53.9%), против мучнистой росы – Скарлет+Витаплан (69%), против бурой ржавчины – Трихоцин+Витаплан (73.8%) (табл. 2).

Что касается обработок по вегетации и влияния внесения Стернифага, то следует отметить, что наиболее

Таблица 1. Влияние внесения Стернифага в почву и протравливания семян на развитие корневых гнилей в посеве пшеницы

Вариант	Кущение пшеницы		Молочно-восковая спелость зерна	
	развитие болезни, %	биологическая эффективность, %	развитие болезни, %	Биологическая эффективность, %
Контроль	5.1		15.8	
Стернифаг	5.3	0	8.2*	48.1
Трихоцин+Витаплан	4.9	3.9	7.1*	55.1
Скарлет+Витаплан	2.4*	52.9	7.6*	51.9
Скарлет	1.8*	64.7	7.9*	50.0

* – варианты достоверно отличаются от контроля на уровне P₀₅ по критерию U – Манна-Уитни.

Table 1. Effect of Sternifag application to soil and seed dressing on the development of root rot in wheat sowing

Treatment	Tillering Stage		Ripening Stage	
	Disease Incidence, %	Biological Efficacy, %	Disease Incidence, %	Biological Efficacy, %
Control	5.1		15.8	
Sternifag	5.3	0	8.2*	48.1
Trichotsin+Vitaflan	4.9	3.9	7.1*	55.1
Scarlet+Vitaflan	2.4*	52.9	7.6*	51.9
Scarlet	1.8*	64.7	7.9*	50.0

*Treatments significantly differ from control (P<0.05) according to the Mann-Whitney U – criterion.

Таблица 2. Влияние обработки семян биопрепаратами на развитие болезней на флаг-листе, %

Вариант	Септориоз	Мучнистая роса	Бурая ржавчина
Контроль	17.8	6.9	6.1
Трихоцин+Витаплан	11.3*	2.6*	1.6*
Скарлет+Витаплан	11.7*	2.1*	3.3
Скарлет	8.2*	2.8	2.9*

* – варианты достоверно отличаются от контроля на уровне P_{05} по критерию U – Манна-Уитни.

Table 2. Effect of seed dressing with biopreparations on the development of diseases on the flag leaf, %

Treatment	Blotch	Powdery Mildew	Brown Rust
Control	17.8	6.9	6.1
Trichotsin+Vitalplan	11.3*	2.6*	1.6*
Scarlet+Vitalplan	11.7*	2.1*	3.3
Scarlet	8.2*	2.8	2.9*

*Treatments significantly different from each other ($P<0.05$) according to the Mann-Whitney U – criterion.

эффективно снижала развитие болезней обработка фунгицидом Титул: на 60.1, 81.1 и 85.4% против септориоза, мучнистой росы и ржавчины, соответственно, по сравнению с контролем (табл. 3). Обработки Алирином с Витапланом и Алирином с Трихоцином в целом были менее эффективны, лишь ржавчину Алирин с Трихоцином подавляли на 63.9%. Внесение Стернифага имело неоднозначное влияние – в некоторых случаях на этом фоне развитие болезни было выше, а где-то ниже.

В период кушения было определено влияние обработки семян на биометрические показатели растений пшеницы. Выявлено, что протравливание семян не повлияло на длину растений и корней. На фоне применения Стернифага отмечен рост количества корней, особенно при протравливании семян Скарлетом. В вариантах с обработкой семян без внесения Стернифага биомасса корней возросла на 33.3–46.7%, а надземная биомасса – на 5.9–18.9%. При применении Стернифага данные показатели увеличились на 40–53.3% и 18.7–33.2% соответственно (табл. 4). Также показан рост биомассы корней на 33.3–46.7% и надземной

части растений на 5.9–18.9% при посеве обработанными семенами без внесения Стернифага, а при его использовании показатели увеличились на 40–53.3% и 18.7–33.2% соответственно.

Как показали наблюдения, обработка семян препаратами повлияла на структурные показатели посева яровой пшеницы. При этом обработка Трихоцином с Витапланом оказало большее положительное влияние, чем химический эталон. Так, густота стояния всходов в этом варианте повысилась на 9% в сравнении с контролем, а при применении протравителя Скарлет – на 5%, количество растений к уборке – на 20 и 7.8%, количество продуктивных стеблей – на 18 и 1.7% соответственно. Аналогичным образом повышались полевая всхожесть, выживаемость растений и др. показатели (табл. 5).

Исследуемые обработки повлияли на биометрические параметры растений и в фазе цветения (табл. 6). Обработка семян и посевов по вегетации снижали высоту растений на 5.0–12.6%, при этом биомассу растений в эту фазу существенно повысило только протравливание семян

Таблица 3. Влияние обработок биопрепаратами по вегетации и внесения Стернифага на развитие болезней на флаг-листе, %

Вариант	Септориоз	Мучнистая роса	Бурая ржавчина
Контроль	17.8	6.9	6.1
Титул	7.1*	1.3*	0.9*
Алирин + Витаплан	12.9	9.4	2.8*
Алирин +Трихоцин	18.4	4.0*	2.2*
Стернифаг+Алирин +Витаплан	19.6	4.4*	5.0
Стернифаг+Алирин +Трихоцин	12.6	6.0	3.9

* – варианты достоверно отличаются от контроля на уровне P_{05} по критерию U – Манна-Уитни.

Table 3. Effect of biopreparation treatments during vegetation and Sternifag application on the development of diseases on the flag leaf, %

Treatment	Blotch	Powdery Mildew	Brown Rust
Control	17.8	6.9	6.1
Titul	7.1*	1.3*	0.9*
Alirin+Vitalplan	12.9	9.4	2.8*
Alirin+Trichotsin	18.4	4.0*	2.2*
Sternifag+Alirin+Vitalplan	19.6	4.4*	5.0
Sternifag+Alirin+Trichotsin	12.6	6.0	3.9

*Treatments significantly differ from control ($P<0.05$) according to the Mann-Whitney U – criterion.

Скарлетом и обработка Титулом, биопрепараты практически не повлияли на данный показатель. В то же время обработка семян Витапланом с Трихоцином увеличила площадь флагового листа на 70.7% (химический эталон

– на 45.3%). Опрыскивание Алирином с Трихоцином обусловило рост показателя на уровне применения Титула – на 43.4%, а на фоне внесения Стернифага увеличение площади флаг-листа было еще больше – 51.9–54.7%.

Таблица 4. Влияние предпосевной обработки семян на некоторые биометрические показатели в фазе кущения пшеницы

Вариант		Высота растений, см	Длина корней, см	Кол-во корней, шт./раст.	Воздушно-сухая биомасса корней, г /25 раст.	Воздушно-сухая биомасса надземной части растений, г/25 раст.
Контроль	Без Стернифага	28.2	8.4	4.5	0.30	4.01
Трихоцин+Витаплан		28.1	7.2*	4.4	0.42	4.25
Скарлет+Витаплан		28.5	7.8	4.7	0.40	4.52
Скарлет		28.8	8.1	4.2	0.44*	4.77
Контроль	Стернифаг	28.7	7.6	4.0	0.33	4.42
Трихоцин+Витаплан		27.6	7.1	4.7*	0.45	4.86
Скарлет+Витаплан		28.4	7.6	4.7*	0.42	5.10
Скарлет		26.8*	8.1	4.9*	0.46	5.40*
НСР ₀₅		1.3	0.7	0.3	0.14	0.97

Table 4. Effect of seed dressing on some biometric indicators in the tillering phase of wheat

Treatment		Plant Height, cm	Root Length, cm	Number of Roots per Plant	Dry Biomass of Roots from 25 Plants, g	Dry Biomass of Shoots from 25 Plants, g
Control	No Sternifag	28.2	8.4	4.5	0.30	4.01
Trichotsin+Vitaplan		28.1	7.2*	4.4	0.42	4.25
Scarlet+Vitaplan		28.5	7.8	4.7	0.40	4.52
Scarlet		28.8	8.1	4.2	0.44*	4.77
Control	Sternifag	28.7	7.6	4.0	0.33	4.42
Trichotsin+Vitaplan		27.6	7.1	4.7*	0.45	4.86
Scarlet+Vitaplan		28.4	7.6	4.7*	0.42	5.10
Scarlet		26.8*	8.1	4.9*	0.46	5.40*
LSD ₀₅		1.3	0.7	0.3	0.14	0.97

Таблица 5. Влияние протравливания семян на структурные показатели посева пшеницы

Вариант	Количество всходов, шт/м ²	Количество растений к уборке, шт/м ²	Выживаемость, %	Количество стеблей, шт/м ²	Общая кустистость, шт./раст.	Количество колосьев, шт/м ²	Продуктивная кустистость, шт./раст.
Контроль	468	345	73.7	436	1.26	405	1.17
Трихоцин+ Витаплан	508	414*	81.5	513*	1.24	478*	1.16
Скарлет+ Витаплан	466	390	83.7	476	1.22	417	1.07
Скарлет	493	372	75.4	454	1.22	412	1.11
НСР ₀₅	82	60		75		65	

Table 5. Effect of seed dressing on structural indicators of wheat stand

Treatment	Number of Sprouts per m ²	Number of Plants at Harvest per m ²	Survival Rate, %	Number of Stems per m ²	Number of Stems per Plant	Number of ears per m ²	Number of Ear-bearing Stems per Plant
Control	468	345	73.7	436	1.26	405	1.17
Trichotsin+Vitaplan	508	414*	81.5	513*	1.24	478*	1.16
Scarlet+Vitaplan	466	390	83.7	476	1.22	417	1.07
Scarlet	493	372	75.4	454	1.22	412	1.11
LSD ₀₅	82	60		75		65	

Таблица 6. Влияние протравливания и обработок по вегетации на некоторые биометрические показатели в период цветения пшеницы

Вариант	Площадь флаг-листа, см ²	Высота растений, см	Воздушно-сухая масса 25 растений, г
Контроль	10.6	90.3	40.3
Трихоцин+Витаплан	18.1*	78.9*	37.5
Скарлет+Витаплан	14.8*	83.3*	42.9
Скарлет	15.4*	81.7*	53.6*
Титул	15.2*	80.9*	50.2*
Алирин+Витаплан	13.9*	85.8*	39.6
Алирин+Трихоцин	15.2*	79.8*	31.6
Стернифаг +Алирин + Витаплан	16.1*	82.1*	31.2
Стернифаг + Алирин + Трихоцин	16.4*	80.3*	38.7
HCP ₀₅	2.7	3.6	9.2

Table 6. Effect of seed dressing and treatments during vegetation on some biometric indicators during flowering of wheat

Treatment	Flag Leaf Area, cm ²	Plant Height, cm	Dry Weight of 25 Plants, g
Control	10.6	90.3	40.3
Trichotsin+Vitalplan	18.1*	78.9*	37.5
Scarlet+Vitalplan	14.8*	83.3*	42.9
Scarlet	15.4*	81.7*	53.6*
Titul	15.2*	80.9*	50.2*
Alirin+Vitalplan	13.9*	85.8*	39.6
Alirin+Trichotsin	15.2*	79.8*	31.6
Sternifag+Alirin+Vitalplan	16.1*	82.1*	31.2
Sternifag+Alirin+Trichotsin	16.4*	80.3*	38.7
LSD ₀₅	2.7	3.6	9.2

Предпосевная обработка семян оказывала статистически достоверное влияние ($p < 0.05$) на массу зерна с колоса. При этом необходимо отметить, что по сравнению с контролем, обработка семян Трихоцином и Витапланом повышала данный показатель практически на уровне химического протравителя Скарлет. Также наблюдалась тенденция увеличения количества зерен в колосе в одинаковой степени для этих двух вариантов (табл. 7).

В ходе наблюдений за динамикой целлюлозолитической активности почвы в полевых условиях выявлена как

различающаяся интенсивность утилизации целлюлозы под незащищенной и защищенной пшеницей, так и зависимость ее скорости от погодных условий (рис. 1).

Во всех вариантах опыта целлюлоза интенсивнее разлагалась в первые и последние 30 суток вегетации. Это связано с малым количеством осадков во II и III декадах июня. За первые 30 суток по сравнению с контролем в варианте обработки семян Витапланом с Трихоцином разложение целлюлозы усилилось в 1.5 раза, Скарлетом с Витапланом – в 1.9 раза, Скарлетом – в 2.2 раза (t_{05} факт. = 9.02;

Таблица 7. Влияние протравителей на структурные показатели продуктивности колоса

Вариант	Длина колоса, см	Количество колосков в колосе, шт.	Количество зерен в колосе, шт.	Масса зерна с колоса, г
Контроль	9.3	16.5	31.0	0.90
Трихоцин+Витаплан	9.6	16.8	33.6	1.01*
Скарлет+Витаплан	9.3	15.8*	30.8	0.92
Скарлет	9.4	16.3	33.8*	1.05*
HCP ₀₅	0.5	0.7	2.8	0.11

Table 7. Effect of seed disinfectants on structural indicators of ear productivity

Treatment	Head Length, cm	Number of Spikelets in Ear	Number of Kernels in Ear	Weight of Kernels per Ear
Control	9.3	16.5	31.0	0.90
Trichotsin+Vitalplan	9.6	16.8	33.6	1.01*
Scarlet+Vitalplan	9.3	15.8*	30.8	0.92
Scarlet	9.4	16.3	33.8*	1.05*
LSD ₀₅	0.5	0.7	2.8	0.11

12.0; 17.67 соответственно; t_{05} теор. = 2.45). За последний месяц прирост убыли массы полотен значительно (в 1.6 раза) возрос в варианте Скарлет. И в целом за 90 суток полевого эксперимента в условиях нестабильного прихода атмосферной влаги убыль целлюлозосодержащего материала под защищенными растениями была выше, чем под незащищенными, в 1.3; 1.2 и 1.7 раза (t_{05} факт. = 9.28; 5.32; 19.53 соответственно между контролем и вариантом Витаплан+Трихоцин, Скарлет+ Витаплан, Скарлет; t_{05} теор. = 2.78, что показывает достоверные отличия между вариантами).

Через 2 недели после внесения полотен в разрезы проведена оценка целлюлозолитической активности ризосферного слоя почвы, обработанной Стернифагом. Эксперимент проводился в контролируемых условиях влажности и температуры. Его результаты (табл. 8), показали, что внесенный в почву активатор разложения стерни способен увеличивать скорость распада целлюлозы. В контроле убыль ее массы увеличивалась в 1.3 раза, в вариантах Витаплан + Трихоцин, Витаплан + Скарлет и Скарлет – в 1.7, 1.6 и 1.2 раза.

Смеси с Витапланом влияли на процесс заметно эффективнее. В случае внесения Стернифага с последующим посевом семян, обработанных биофунгицидами, скорость деструкции полотен возрастала в 1.9 раза. В полевых условиях через 30 суток со дня внесения Стернифага при посеве необработанных семян целлюлозолитическая активность ризосферного слоя почвы усиливалась в 1.6 раза (без внесения Стернифага и обработки семян убыль полотна составила 12.28%; t_{05} факт. = 12.48; t_{05} теор. = 2.45). На фоне Стернифага под незащищенной (19.32%) и защищенной пшеницей разница в убыли массы полотна оказалась незначительной – 1.5% (t_{05} факт. = 0.30; t_{05} теор. = 2.45) при посеве семян, обработанных Витапланом с Трихоцином; становилась заметной в варианте Витаплан + Скарлет (8.5%; t_{05} факт. = 1.40; t_{05} теор. = 2.45) и значительно возрастала (на 29.8% t_{05} факт. = 14.89; t_{05} теор. = 2.45) в случае посева семян, обработанных системным фунгицидом Скарлет. Через 90 суток полевого эксперимента максимальное количество целлюлозы утилизировалось под яровой пшеницей, защищенной от почвенно-семенной инфекции фунгицидом Скарлет (табл. 9).

Таблица 8. Скорость разложения целлюлозы в почве, обработанной перед посевом Стернифагом, лабораторный эксперимент ($M \pm m$, %)

Вариант	Без внесения Стернифага	Стернифаг	t_{05} факт.	t_{05} теор.
Контроль (без обработки семян)	31.53±0.50	41.25±0.40	14.80	2.31
Витаплан + Трихоцин	35.95±0.22	59.53±0.84	31.17	
Витаплан + Скарлет	26.08±0.32	40.64±0.34	31.18	
Скарлет	35.52±0.66	44.25±0.44	11.01	

Число степеней свободы = 8

Table 8. Cellulose decomposition rate in soil treated with Sternifag before sowing, laboratory experiment ($M \pm m$,%)

Treatment	No Sternifag	Sternifag	t_{05} fact.	t_{05} exp.
Control (no seed treatment)	31.53±0.50	41.25±0.40	14.80	2.31
Trichotsin+Vitaplan	35.95±0.22	59.53±0.84	31.17	
Scarlet+Vitaplan	26.08±0.32	40.64±0.34	31.18	
Scarlet	35.52±0.66	44.25±0.44	11.01	

8 degrees of freedom

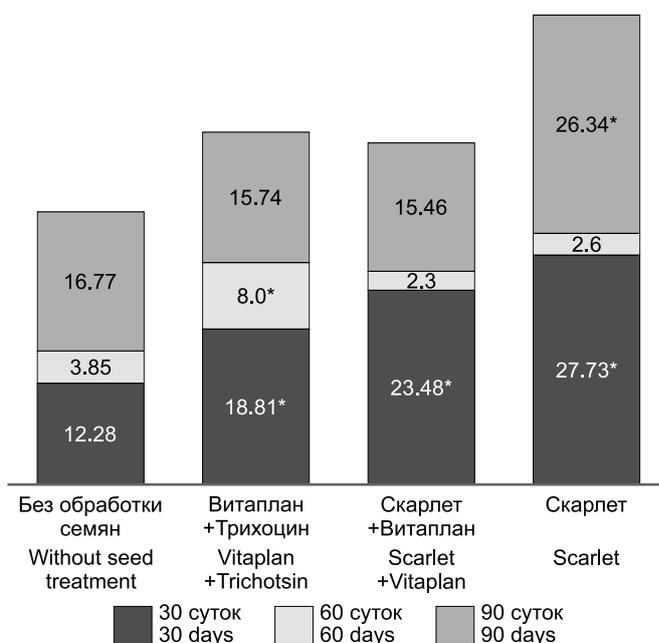


Рисунок 1. Зависимость разложения целлюлозы под яровой пшеницей от обработки семян в полевых условиях в сезонной динамике, % (отличия от контроля по t-критерию, см в тексте)

Figure 1. Dependence of cellulose decomposition under spring wheat on seed treatment under field conditions in seasonal dynamics, %

Ослабление целлюлозолитической активности отмечено в вариантах с защитой растений пшеницы фунгицидом Титул, если высевали семена, не защищенные от почвенно-семенной инфекции и усиление – в 1.44 и 2.0 раза (t_{05} факт. = 8.74 и 14.27; t_{05} теор. = 2.45) – защищенные смесями, включающими биофунгицид Витаплан. Комплексная химическая защита относительно варианта без обработки семян и их протравливания биофунгицидами биологическую активность почвы не снижала (t_{05} факт. = 8.32; t_{05} теор. = 2.45). Среди изучаемых схем биологизированной защиты растений лучшим по влиянию на целлюлозолитический процесс оказался вариант, включающий обработку семян фунгицидом Скарлет и растений биофунгицидами Алирин и Витаплан. Убыль массы полотна в этом варианте

Таблица 9. Разложение целлюлозы в ризосфере яровой мягкой пшеницы, выращиваемой с использованием биологических препаратов и фунгицидов, через 90 суток, полевой эксперимент (M±m, %)

Вариант	Без обработки фунгицидами	Титул	Без Стернифага		Стернифаг	
			Алирин + Витаплан	Алирин + Трихоцин	Алирин + Витаплан	Алирин + Трихоцин
Контроль (без обработки семян)	32.9±0.68	22.4±1.04	35.4 ±0.97	32.2 ±0.40	37.0±1.16	35.3 ±0.63
Витаплан + Трихоцин	42.5±0.79	32.4±0.25	41.0 ±0.91	34.8 ±0.68	38.5±0.71	37.3 ±1.18
Витаплан + Скарлет	41.2±1.42	44.0±1.10	47.4 ±0.71	35.9 ±0.39	38.9±0.88	40.6 ±1.48
Скарлет	56.7±1.01	47.6±1.63	52.9 ±1.61	36.2 ±0.37	42.0±0.43	41.5 ±1.70

6 степеней свободы

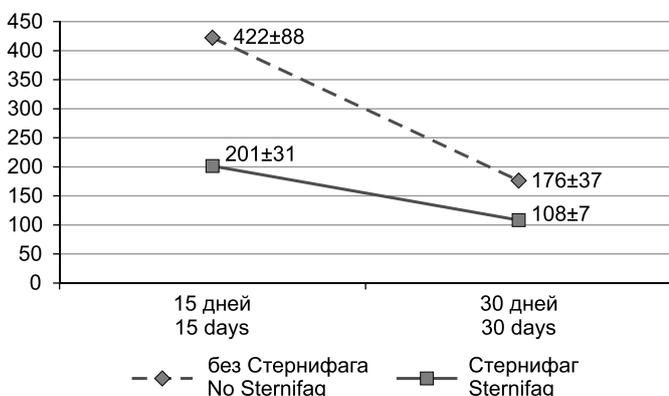
Table 9. Decomposition of cellulose in the rhizosphere of spring soft wheat grown using biopreparations and fungicides, after 90 days, field experiment (M ± m, %)

Treatment	No fungicides	Titul	No Sternifag		Sternifag	
			Alirin+Vitaplan	Alirin+Trichotsin	Alirin+Vitaplan	Alirin+Trichotsin
Control (no seed treatment)	32.9±0.68	22.4±1.04	35.4 ±0.97	32.2 ±0.40	37.0±1.16	35.3 ±0.63
Trichotsin+Vitaplan	42.5±0.79	32.4±0.25	41.0 ±0.91	34.8 ±0.68	38.5±0.71	37.3 ±1.18
Scarlet+Vitaplan	41.2±1.42	44.0±1.10	47.4 ±0.71	35.9 ±0.39	38.9±0.88	40.6 ±1.48
Scarlet	56.7±1.01	47.6±1.63	52.9 ±1.61	36.2 ±0.37	42.0±0.43	41.5 ±1.70

6 degrees of freedom

составила 52.9%, что выше, чем при протравливании семян биофунгицидами в 1.3 раза, а без их обработки – в 1.5 раза ($t_{0.5\text{факт.}} = 6.43$ и 9.31 ; $t_{0.5\text{теор.}} = 2.45$). На фоне внесения Стернифага влияние биологизированной защиты растений на целлюлозолитическую активность ризосферного слоя к концу вегетации значимо не различилось, но и здесь прослеживалась тенденция ее усиления (в 1.1–1.2 раза; $t_{0.5\text{факт.}} = 4.03$ и 3.42 ; $t_{0.5\text{теор.}} = 2.45$) под пшеницей, выросшей из семян, обработанных химическим фунгицидом-протравителем. В целом, по шкале Звягинцева Д.Г. (1991) интенсивность разрушения клетчатки (%) за вегетационный сезон 2020 г. можно характеризовать как среднюю (30–50%) и при использовании двух схем защиты с включением протравливания семян фунгицидом Скарлет – как сильную (50–80%).

Усиление целлюлозолитической активности при обработке Стернифагом можно было наблюдать и непосредственно по количеству стерни. Определение количества растительных остатков на поверхности и в верхнем

**Рисунок 2.** Влияние обработки Стернифагом на количество растительных остатков, г/м²**Figure 2.** Influence of Sternifag treatment on the amount of plant residues, g/m²

10-сантиметровым слое почвы (в сумме) показало, что уже через 15 дней после внесения Стернифага их было в 2.4 раза меньше чем на участке без его применения (рис 2, рис. 3). Спустя месяц после него масса растительных остатков продолжала снижаться, но различия уменьшились до 1.6 раза.

Рассматривая суммарный показатель эффективности защитных мероприятий – урожайность, следует отметить, что наибольший ее рост обеспечили обработки по вегетации (табл. 10). Обработка Титулом повысила урожайность по сравнению с контролем на 0.2–0.4 т/га в зависимости от варианта протравливания. Опрыскивание посевов Алирином с Витапланом привело к ее росту на 0.1–0.4 т/га, Алирином с Трихоцином – на 0.1–0.2 т/га. На фоне применения Стернифага максимальные прибавки снизились на

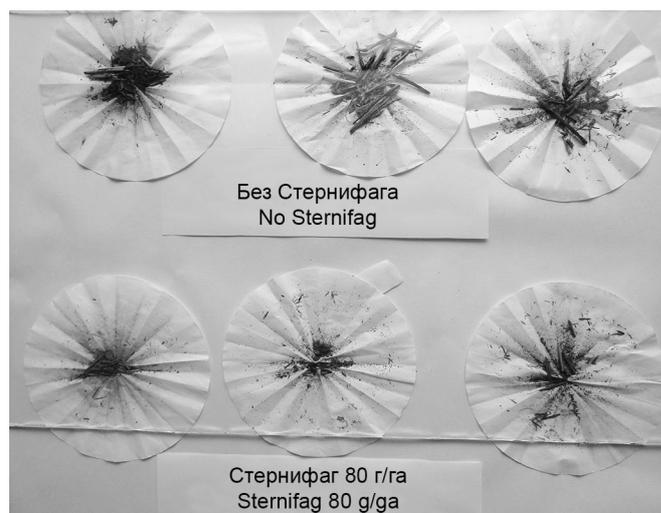
**Рисунок 3.** Количество растительных остатков через 15 дней после применения Стернифага, г/100 г почвы, промывка через сито 0.25 мм**Figure 3.** The amount of plant residues 15 days after the application of Sternifag, g/ 100 g of soil, washing through a 0.25 mm sieve

Таблица 10. Влияние протравливания семян и обработок по вегетации на урожайность пшеницы, т/га

Обработка семян фактор А	Обработки по вегетации фактор В						Средние по фактору А
	Контроль	Титул	Алирин + Витаплан	Алирин + Трихоцин	Стернифаг + Алирин + Витаплан	Стернифаг + Алирин + Трихоцин	
Контроль	2.1	2.3	2.3	2.3	2.4*	2.3	2.3
Трихоцин+Витаплан	2.0	2.3	2.1	2.1	2.1	2.2	2.1*
Скарлет+Витаплан	2.1	2.4*	2.4*	2.3	2.2	1.9	2.2
Скарлет	2.4*	2.8*	2.8*	2.6*	2.4*	2.5*	2.6*
Средние по фактору В	2.1	2.5*	2.4*	2.3*	2.3*	2.2	
НСР ₀₅ По фактору А =0.2, по фактору В =0.2, частных средних =0.3							

Table 10. Influence of seed dressing and treatments during vegetation on wheat yield, t / ha

Seed Dressings, Factor A	Foliar treatments, Factor B						Factor A Means
	Control	Titul	Alirin +Vitalplan	Alirin +Trichotsin	Sternifag +Alirin+Vitalplan	Sternifag +Alirin+Trichotsin	
Control	2.1	2.3	2.3	2.3	2.4*	2.3	2.3
Trichotsin+Vitalplan	2.0	2.3	2.1	2.1	2.1	2.2	2.1*
Scarlet+Vitalplan	2.1	2.4*	2.4*	2.3	2.2	1.9	2.2
Scarlet	2.4*	2.8*	2.8*	2.6*	2.4*	2.5*	2.6*
Factor B Means	2.1	2.5*	2.4*	2.3*	2.3*	2.2	
LSD ₀₅ A=0.2, B=0.2, mean=0.3							

0.1 т/га, что, вероятно, связано со снижением уровня азота в почве, который был израсходован на более интенсивное разложение соломы в почве (Русакова, 2018). Протравливание семян препаратом Скарлет повысило урожайность от 0.2 до 0.5 т/га на разных фонах обработок по вегетации. Применение смеси биопрепаратов не оказало влияния на урожайность, однако половинная доза Скарлета в смеси с биопрепаратом повысила ее на 0.1–0.2 т/га. Таким

образом, совместное применение химических препаратов обеспечило рост урожайности на 0.7 т/га, ему не уступает использование Алирина и Витаплана на фоне протравливания семян Скарлетом, Алирин с Трихоцином на этом фоне обеспечил меньшую прибавку – 0.5 т/га, однако различия в урожайности между указанными вариантами статистически не достоверны.

Заключение

При выращивании пшеницы Новосибирская 31 по зерновому предшественнику наибольшая эффективность подавления обыкновенной корневой гнили в фазу кущения отмечена при обработке семян химическим протравителем Скарлет (64.7%), а его половинная норма с биологическим препаратом снизила развитие болезни на 52.7%. Внесение Стернифага и обработка семян биопрепаратами практически не влияли на развитие инфекции. Но в фазе молочно-восковой спелости там, где в почву вносили Стернифаг, пораженность растений корневой гнилью снизилась на 48.1%, что сопоставимо с действием химического протравителя, его смеси с биологическим препаратом и немного уступает применению Трихоцина с Витапланом. Предпосевная обработка семян снижала развитие всех основных листовых инфекций – против септориоза наиболее эффективным был Скарлет (биологическая эффективность 53.9%), против мучнистой росы – Скарлет+Витаплан (69%), против бурой ржавчины – Трихоцин+Витаплан (73.8%). Обработка посевов фунгицидом Титул снизила развитие этих болезней на 60.1, 81.1 и 85.4% соответственно. Алирин с Трихоцином эффективно, на 63.9%, подавляли лишь бурую ржавчину.

Наибольший рост урожайности обеспечили обработки посева по вегетации. Применение фунгицида Титул

повысило урожайность на 0.2–0.4 т/га в зависимости от варианта протравливания. Опрыскивание посевов Алирином с Витапланом привело к ее росту на 0.1–0.4 т/га, Алирином с Трихоцином – на 0.1–0.2 т/га. Применение химических препаратов обеспечило рост урожайности на 0.7 т/га, ему не уступает использование Алирина и Витаплана на фоне протравливания семян Скарлетом, Алирин с Трихоцином на этом фоне обеспечил меньшую прибавку – 0.5 т/га, однако различия в урожайности статистически недостоверны.

Подводя итог проведенным исследованиям, следует отметить, что хотя применение биопрепаратов в целом имеет меньшую биологическую эффективность, чем химических фунгицидов, однако можно подобрать такие сочетания химических и биологических препаратов, способных стабилизировать фитосанитарную ситуацию и обеспечить урожайность на соответствующем уровне. Применению биопрепаратов должна быть отведена заметная роль в системе оздоровления фитосанитарного состояния посевов мягкой яровой пшеницы. Для подтверждения выявленных тенденций необходимо продолжение серии экспериментов в данной природно-климатической зоне в последующие годы.

Библиографический список (References)

- Санин СС (2017) Стратегия современной защиты растений при интенсивном зернопроизводстве. *Вестник ОрелГАУ* 3(66):35–39 <https://doi.org/10.15217/48484>
- Кириушин ВИ (2011) Теория адаптивно-ландшафтного земледелия и проектирование агроландшафтов. М: КолосС. 443 с.
- Санин СС (2020) Защита растений и устойчивое земледелие в XXI столетии *Защита и карантин растений* 4: 9–16
- Павлюшин ВА, Новикова ИИ, Бойкова ИВ (2020) Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика *Сельскохозяйственная биология* 3: 421–438 <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2020.3.421rus>
- Смирнова ИП, Каримова ЕВ, Шнейдер ЮА (2016) Некоторые перспективы использования метаболитов рода *Trichoderma* *Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство* 3:22–29
- Голованова ТИ, Долинская ЕВ, Сичкарук ЕА (2009) Взаимоотношения почвенного гриба *Trichoderma* и яровой пшеницы *Вестник КрасГАУ* 7:102–107
- РусакOVA ИВ (2018) Биопрепараты для разложения растительных остатков в агроэкосистемах *Juvenis scientia* 9:4–9 <https://doi.org/10.32415/jscientia.2018.09.01>
- Санин СС, Назаров ЛН, Неклеса НП, Полякова ТМ, Гудвин С (2012) Эффективность биопестицидов и регуляторов роста растений в защите пшеницы от болезней *Защита и карантин растений* 3:16–18
- Доронин ВГ, Ледовский ЕН, Кривошеева СВ (2017) Эффективность защиты яровой мягкой пшеницы от листостеблевых болезней в южной лесостепи Западной Сибири *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии* 2(47):6–12
- Власова ОИ, Данилец ЕА, Передериева ВМ, Вольтерс ИА (2019) Эффективность использования биопрепаратов при возделывании озимой пшеницы *Научный журнал КубГАУ* 149(5):1–8 <https://doi.org/10.21515/1990-4665-149-011>
- Доспехов БА (1985) Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) 5-е изд. М.:Агропромиздат. 351 с.
- Гаврилова ВИ, Герасимова МИ (2019) Целлюлозолитическая активность почв: методы измерения, факторы и экологическая изменчивость *Вестник Моск. ун-та. Сер. 17. Почвоведение* 1:23–27
- Овчинникова ТА, Панкратов ТА (2009) Методы экологии почвенных микроорганизмов. Самара: Изд-во «Самарский университет». 62 с.
- Торопова ЕЮ, Кириченко АА (2012) Фитосанитарный экологический мониторинг. Методические указания к лабораторно-практическим занятиям и контрольной работе. Новосибирск: НГАУ. 38 с.
- Санин СС, Черкашин ВИ, Назарова ЛН (2002). Фитосанитарная экспертиза зерновых культур (болезни растений). М.: ФГНУ Росинформагротех. 140 с.
- Сорокин ОД (2012) Прикладная статистика на компьютере. 2-е изд. Новосибирск. 282 с.
- Методы почвенной микробиологии и биохимии: Учеб. пособие / Под ред. Д. Г. Звягинцева (1991) М.: Изд-во МГУ. 304 с.
- Alabouvette C, Olivain C, Steinberg C (2006) Biological control of plant diseases: the European situation *Eur J Plant Pathol* 114: 329–341 <https://doi.org/10.1007/s10658-005-0233-0>
- O'Brien P A (2017) Biological control of plant diseases *Australas Plant Pathol* 46:293–304 <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0481-4>
- Tariq M, Khan A, Asif M, Khan F, Ansari T, Shariq M, Siddiqui M (2020) Biological control: a sustainable and practical approach for plant disease management *Acta Agric Scand on B – Soil & Plant Science* 70(6):507–524 <https://doi.org/10.1080/09064710.2020.1784262>
- Vinale F, Ghisalberti EL, Sivasithamparam K, Marra R, Ritieni A, Ferracane R, Woo S, Lorito M (2009) Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens *Lett Appl Microbiol* 48:705–711 <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02599.x>
- Vinale F, Sivasithamparam K, Ghisalberti EL, Ruocco M, Woo S, Lorito M (2012) *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism *Nat Prod Commun* 7 (11):1545–1550 <https://doi.org/10.1177/1934578X1200701133>
- Benítez T, Rincón AM, Limón MC, Codón AC (2004) Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains *Int Microbiol* 7:249–260
- Singh A, Shukla N, Kabadwal BC, Tewari AK, Kumar J (2018) Review on plant-*Trichoderma* – pathogen interaction *Int J Curr Microbiol App Sci* 7(2):2382–2397 <https://doi.org/10.20546/ijemas.2018.702.291>
- Mastouri F, Björkman T, Harman GE (2010) Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings *Phytopathology* 100:1213–1221 <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-10-0091>
- Cumagun ChJ, Manalo JO, Salcedo-Bacalangco NA, Ilag LL (2009) Cellulose decomposing ability of *Trichoderma* in relation to their saprophytic survival *Arch Phytopathol Plant Protect* 42(7): 698–704 <https://doi.org/10.1080/03235400701492731>
- Siva DO, Paul S, Sarkar D, Rajput RS, Singh S, Parihar M, Parewa HP, Pal S, Singh HB, Rakshit A (2019) *Trichoderma*: A part of possible answer towards crop residue disposal *J Nat Appl Sci* 11(2):516–523 <https://doi.org/10.31018/jans.v11i2.2090>

Translation of Russian References

- Sanin SS (2017) The strategy of modern plant protection at intensive grain production *Bulletin of OrelGAU* 3 (66): 35–39 <https://doi.org/10.15217/48484>
- Kiryushin VI (2011) Theory of adaptive landscape agriculture and design of agricultural landscapes. M: KolosS. 443 p.
- Sanin SS (2020) Plant protection and sustainable agriculture in the XXI century *Plant protection and quarantine* 4: 9–16
- Pavlyushin VA, Novikova II, Boykova IV (2020) Microbiological control in phytosanitary optimization technologies for agroecosystems: research and practice

- Agricultural biology* 3: 421–438 <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.3.421rus>
- Smirnova IP, Karimova EV, Schneider YA (2016) Some prospects of use metabolites of the genus *Trichoderma* *Vestnik RUDN. Series: Agronomy and Livestock* 3: 22–29
- Golovanova TI, Dolinskaya EV, Sichkaruk EA (2009) Interrelations of soil *Trichoderma* fungi and the highest plants of cereals family *Bulletin of KrasGAU* 7: 102–107
- Rusakova IV (2018) Biopreparations for decomposition of plant residues in agroecosystems *Juvenis scientia* 9: 4–9 <https://doi.org/10.32415/jscientia.2018.09.01>
- Sanin SS, Nazarov LN, Neklesa NP, Polyakova TM, Goodwin S (2012) The effectiveness of biopesticides and plant growth regulators in protecting wheat from diseases *Plant protection and quarantine* No. 3: 16–18
- Doronin VG, Ledovsky EN, Krivosheeva SV (2017) Effectiveness of spring soft wheat protection against leaf-stem diseases in the southern forest-steppe of Western Siberia *Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy* 2 (47): 6–12
- Vlasova OI, Danilets EA, Perederieva VM, Volters IA (2019) Efficiency of biopreparations in the cultivation of winter wheat *Scientific journal KubGAU* 149 (5): 1–8 <https://doi.org/10.21515/1990-4665-149-011>
- Dospikhov BA (1985) Field experience methodology (with the basics of statistical processing of research results) 5th ed. M.: Agropromizdat. 351 p.
- Gavrilova VI, Gerasimova MI (2019) Cellulosolytic activity of soils: methods of measuring, factors, and geographic variability *Bulletin Mosk. un-ty. Ser. 17. Soil science* 1: 23–27
- Ovchinnikova TA, Pankratov TA (2009) Methods of ecology of soil microorganisms. Samara: Publishing House “Samara University.” 62 p.
- Toropova YU, Kirichenko AA (2012) Phytosanitary environmental monitoring. Methodological guidelines for laboratory and practical exercises and control work. Novosibirsk: NGAU. 38 p.
- Sanin SS, Cherkashin VI, Nazarova LN (2002). Phytosanitary examination of grain crops (plant diseases). M.: FSNU Rosinformagrotech. 140 p.
- Sorokin OD (2012) Application statistics on a computer. 2nd ed. Novosibirsk. 282 p.
- Methods of soil microbiology and biochemistry: Textbook / Ed. D. G. Zvyagintsev (1991) M.: Publishing House of Moscow State University. 304 p.

Plant Protection News, 2021, 104(4), p. 202–212

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15029>

Full-text article

PROTECTION OF SPRING WHEAT WITH BIOPREPARATIONS AND FUNGICIDES IN THE FOREST STEPPE OF PRIOBYE: I. FIRST RESULTS IN EXTREME WEATHER CONDITIONS

N.G. Vlasenko^{1*}, V.A. Pavlyushin², O. I. Teplyakova¹, O.V. Kulagin¹, D.O. Morozov³

¹*Siberian Federal Scientific Center of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk region, r.p. Krasnoobsk, Russia*

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

³*JSC “AgroBioTechnology”, Moscow, Russia*

*corresponding author, e-mail: vlas_nata@ngs.ru

The paper presents data on a comparative test of the efficacy of chemical, fungal and bacterial fungicides in limiting the harmfulness of main diseases of spring wheat. The research was carried out on leached chernozem of the forest-steppe of Priobye of the Novosibirsk region. It was shown that Sternifag, SP reduces the development of root rot at the end of the growing season by 48%, which is comparable to the effect of a chemical dressing agent Scarlet, ME (imazalil+tebuconazole) and is slightly inferior to the action of combined application of fungal preparation Trichocin, SP with the bacterial preparation Vitaplan, SP (55%). Preplanting seed treatment effectively reduced the development of leaf infections: Scarlet, ME suppressed the development of Septoria blotch by 54%, Scarlet, ME + Vitaplan, SP – of powdery mildew by 69%, Trichotsin, SP + Vitaplan, SP – of brown rust by 74%. Fungicide Titul 390, KKR reduced the development of these diseases by 60, 81 and 85%, respectively. Alirin-B, W with Trichocin, SP suppressed brown rust by 64%. Cellulosolytic activity increased 1.3–1.9 times compared to the control as a result of the action of biological products and Sternifag, SP. The amount of plant residues decreased 2.4 and 1.9 times 15 and 30 days after application. The greatest increase in yield was provided by chemical fungicides – 0.7 t / ha, they were not inferior to the use of Alirin-B, W with Vitaplan, SP against the background of etching with Scarlet, ME fungicide.

Keywords: spring wheat diseases, plant protection, harmfulness, cellulosolytic activity, plant remnants, yield

Submitted: 09.06.2021

Accepted: 03.12.2021

BOTRYOSPHAERIA SINENSIS – ПЕРВАЯ НАХОДКА НА ЛЮПИНЕ БЕЛОМ

Е.Л. Гасич, А.С. Орина*

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

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

При микологическом анализе семян люпина белого сорта Дега из Орловской области в 2018 году был выделен штамм MF KP-12.1, по морфолого-культуральным характеристикам сходный с грибами *Botryosphaeria*. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей фрагментов генов большой субъединицы рРНК (LSU), фактора элонгации-1 α (TEF) и внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) позволил однозначно установить принадлежность штамма виду *B. sinensis*. При заражении в лабораторных условиях 2-недельных растений люпина белого мицелиальной суспензией штамма *B. sinensis* степень поражения растений на 3 сут достигла 67%, на 10 сут отмечалась 100% гибель растений. Патогенные свойства были подтверждены реизоляцией штамма *B. sinensis* из пораженных растений. Это первая находка *B. sinensis* на люпине белом, который не был известен как возможный хозяин для этого гриба. Также это первое обнаружение *B. sinensis* на территории России.

Ключевые слова: *Lupinus albus*, бобовые травы, семенная инфекция, пикнидиальные грибы, ДНК, патогенность

Поступила в редакцию: 22.10.2021

Принята к печати: 30.11.2021

Введение

Грибы рода *Botryosphaeria* Ces. & De Not. (Botryosphaeriaceae, Botryosphaeriales) обнаружены на всех континентах и являются неспециализированными патогенами, выявленными на нескольких сотнях видов растений-хозяев (Crous et al., 2006). Грибы рода *Botryosphaeria* могут длительное время вести эндофитный образ жизни, приводя к развитию симптомов при ослаблении растений под действием стресса (Marsberg et al., 2017). *Botryosphaeria* spp. поражают преимущественно древесные растения (Crous et al., 2006), однако, некоторые виды зарегистрированы в качестве возбудителей болезней однолетних травянистых растений. Так, например, типовой вид рода *Botryosphaeria dothidea* (Moug.) Ces. & De Not. вызывал гниль стеблей сои (Chen et al., 2021) и табака (Bian et al., 2015), а также серую гниль гречихи татарской (Tang et al., 2021), что подтверждает широкий круг хозяев этого вида (Phillips et al., 2014; Marsberg et al., 2017). Информация о специализации других видов рода *Botryosphaeria* отрывочна.

Среди видов семейства Fabaceae, на которых выявлены грибы *Botryosphaeria*, преобладают древесные растения (Liu et al., 2012; Slippers et al., 2014), тогда как сведения о находках *Botryosphaeria* на бобовых травах немногочисленны (Farr, Rossman, 2021).

В последние годы была проведена ревизия рода *Botryosphaeria* и описано более десяти новых видов (Liu et al., 2012; Slippers et al., 2014; Zhou et al., 2016, 2017; Li et al., 2018; Chu et al., 2021; Hattori et al., 2021). Использование только морфологических характеристик для точной идентификации видов *Botryosphaeria* недостаточно, поскольку признаки могут перекрываться с другими видами Botryosphaeriaceae (Marsberg et al., 2017). Для точной идентификации штаммов *Botryosphaeria* spp. молекулярными методами применяют филогенетический анализ последовательностей нескольких участков генома гриба (Crous et al., 2006; Zhou et al., 2017; Hattori et al., 2021).

Целью работы является уточнение таксономического статуса и изучение свойств штамма *Botryosphaeria* sp. MF KP-12.1, выделенного из семян люпина белого.

Материалы и методы

Образец семян люпина белого сорта Дега (Орловская область, 2018) промывали водопроводной водой, затем стерилизовали 0.1% раствором нитрата серебра в течение 1 мин с последующим промыванием стерильной водой. Поверхностно стерилизованные семена помещали в чашки Петри на поверхность картофельно-сахарозной агаризованной среды (КСА). Чашки инкубировали в термостате при 24°C, выросшие колонии грибов отсеивали в чашки Петри с КСА.

Морфологические особенности штамма *Botryosphaeria* sp. MF KP-12.1 анализировали при культивировании на КСА в течение 7 суток при 24°C в темноте, а затем при

переменном эритемном освещении (12 ч день / 12 ч ночь) для индукции спороношения. Оценивали тип и окраску воздушного мицелия, пигментацию колонии. Анализировали размеры пикнид, конидий, их форму и другие микроморфологические признаки.

Характеристики штамма *Botryosphaeria* sp. MF KP-12.1 были исследованы и задокументированы с помощью микроскопа Olympus BX53 и стереомикроскопа Olympus SZX16 (Olympus, США), подключенного к камере PROKYON (Jenoptik, Германия).

Выделение ДНК из 40–50 мг мицелия, собранного с поверхности колонии гриба *Botryosphaeria* sp. MF KP-12.1,

проводили с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, Литва) согласно протоколу производителя.

Определение видовой принадлежности штамма было проведено на основе анализа нуклеотидных последовательностей трех участков генов: большой субъединицы рРНК (LSU), внутреннего транскрибируемого спейсера рДНК (ITS) и фактора элонгации-1 α (TEF). Амплификацию фрагментов проводили по протоколам авторов с использованием праймеров LSU1Fd (Crous et al., 2009) и LR5 (Vilgalys, Hester, 1990), ITS1 и ITS4 (White et al., 1990), EF1-728f и EF1-986r (Carbone, Kohn, 1999), соответственно. Нуклеотидные последовательности фрагментов определяли на секвенаторе ABIPrism 3500 (Applied Biosystems, Hitachi, Japan) с использованием набора реактивов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems,

USA). Процедуры выравнивания проводили с помощью программы Vector NTI Advance 10 (Thermo Fisher Scientific). Полученные сиквенсы были проверены на сходство с депонированными в международной информационной базе данных NCBI GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Филогенетические реконструкции проводили методами максимальной экономии (maximum parsimony; MP) с использованием программы MEGA X 10.1 (Kumar et al., 2018), а также байесовской вероятности (Bayesian probability; BP) с помощью программы MrBayes v.3.2.1 на платформе Armadillo 1.1 (Lord et al., 2012). Достоверность топологии филогенетических деревьев определяли посредством бутстрэп-анализа (1000 повторностей). Полученные нуклеотидные последовательности размещены в базе данных NCBI GenBank (Таблица 1).

Таблица 1. Штаммы грибов, включенные в филогенетическое исследование

Table 1. Fungal strains included in phylogenetic analysis

Вид Species	Номер штамма в коллекции Collection number	Хозяин, субстрат Host, substrate	Страна, регион Country, region	Год Year	Номер нуклеотидной последовательности в GenBank Accession numbers in GenBank		
					LSU	ITS	TEF
<i>B. agaves</i>	CBS 133992 ET*	<i>Agave</i> sp., листья/leaves	Thailand	2010	JX646808	JX646791	JX646856
<i>B. auasmontanum</i>	CMW 25413 ET	<i>Acacia mellifera</i>	Namibia	2006	KF766332	KF766167	EU101348
<i>B. corticis</i>	CBS 119047 ET	<i>Vaccinium corymbosum</i>	USA	2005	EU673244	DQ299245	EU017539
<i>B. dothidea</i>	CBS 115476 ET	<i>Prunus</i> sp.	Switzerland		DQ377852	KF766151	AY236898
<i>B. fabicerciana</i>	CBS 127193 ET	<i>Eucalyptus</i> sp.	China	2007	MF410028	HQ332197	HQ332213
<i>B. fusispora</i>	MFLUCC 10-0098 ET	<i>Entada</i> sp.	Thailand	2009	JX646806	JX646789	JX646854
<i>B. ramosa</i>	CGMCC3.18006	Myrtaceae	China		KX197081	KX197072	KX197092
<i>B. rosaceae</i>	CGMCC3.18007	<i>Malus</i> sp.	China		KX197083	KX197074	KX197094
<i>B. sinensis</i>	CGMCC3.17723	<i>Morus</i> sp	China		KX197090	KT343254	KU221233
<i>B. sinensis</i>	CFCC 82255		China		KY825090	KT343258	KU221236
<i>B. sinensis</i>	MF KP-12.1**	<i>Lupinus albus</i> семена/seeds	Russia, Oryol region	2018	OK428857***	OK428922	OK483042
<i>Macrophomina phaseolina</i>	CBS 227.33	<i>Zea mays</i>			DQ377906	KF531825	KF531804

Примечание. * Штаммы, нуклеотидные последовательности которых использовались в филогенетическом анализе в качестве референсных. ET – типовой штамм;

** полужирным шрифтом отмечен исследуемый штамм;

*** полужирным шрифтом отмечены нуклеотидные последовательности, полученные в данном исследовании.

* Strains used as references in phylogenetic analyses;

** bold font indicates the strain investigated in the present study;

*** bold font indicates the nucleotide sequences obtained in the present study.

Для оценки патогенности штамм *Botryosphaeria* sp. MF KP-12.1 выращивали в жидкой соевой среде (KH_2PO_4 – 2 г, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1 г, MgSO_4 – 1 г, глюкоза – 20 г, соевая мука – 10 г, вода – 1 л, 50 мл среды на 250 мл колбу) на орбитальном шейкере (200 об/мин) при комнатной температуре в течение 4 суток. Мицелий отделяли от культуральной жидкости, отжимали, измельчали и готовили суспензию в стерильной воде с концентрацией 50 мг/мл.

Семена люпина белого высевали по 3 штуки в сосуды с почвой и выращивали на светоустановке при 25 °C и переменном освещении (12 ч день / 12 ч ночь) в течение 2 недель до достижения стадии 4 настоящих листьев. Отрезки листьев люпина белого раскладывали по 4 штуки в чашки Петри на фильтровальную бумагу, увлажненную стерильной водой. На верхнюю поверхность листового

отрезка наносили каплю 10 мкл мицелиальной суспензии. Чашки Петри с инокулированными отрезками листьев инкубировали при комнатной температуре и естественном освещении. Диаметр некрозов измеряли на 3 сутки. Целые растения инокулировали опрыскиванием мицелиальной суспензией из расчета 10 мл на сосуд. Инокулированные растения помещали во влажные камеры на 24 часа, затем инкубировали при 25 °C и переменном освещении. Определяли площадь пораженной поверхности по установленной методике (Pfirter, Defago, 1998). Опыт выполняли в трехкратной повторности.

Реизоляцию гриба из растений люпина белого с симптомами повреждения производили по методике, описанной выше.

Результаты и обсуждение

В результате микологического анализа семян люпина белого (*Lupinus albus* L.) выделен штамм MF KP-12.1 *Botryosphaeria* sp. Штамм хранится в коллекции чистых культур микроорганизмов лаборатории микологии и фитопатологии ВИЗР.

На КСА колонии сверху и снизу вначале оливково-коричневые, потом сверху темно-бурые, снизу черные, по текстуре войлочные, диаметр колоний на 3 сут – 44.2 ± 1.4 мм, на 7 сут колонии достигают края чашки (Рис. 1). Пикниды поверхностные, часто образуют конгломераты, реже одиночные, округлые или грушевидные, иногда с

сосочком или короткой шейкой, часто на вершине расширенные и покрытые мицелием, черные, 130–810 × 120–675 мкм, споровый экссудат беловатый. Конидии веретеновидные, на концах закругленные, иногда в основании усеченные, гиалиновые, одноклетные, 15.5–24 × 4.5–6.5 мкм, в среднем 19.6 × 5.5 мкм. Конидиогенные клетки гиалиновые, почти цилиндрические, 7–19.5 × 2.2–3.2 мкм. Спермации одноклетные, гиалиновые, цилиндрические с закругленными концами или слегка согнутые, 4–7 × 1.7–2.0 мкм, в среднем 5.4 × 1.8 мкм.

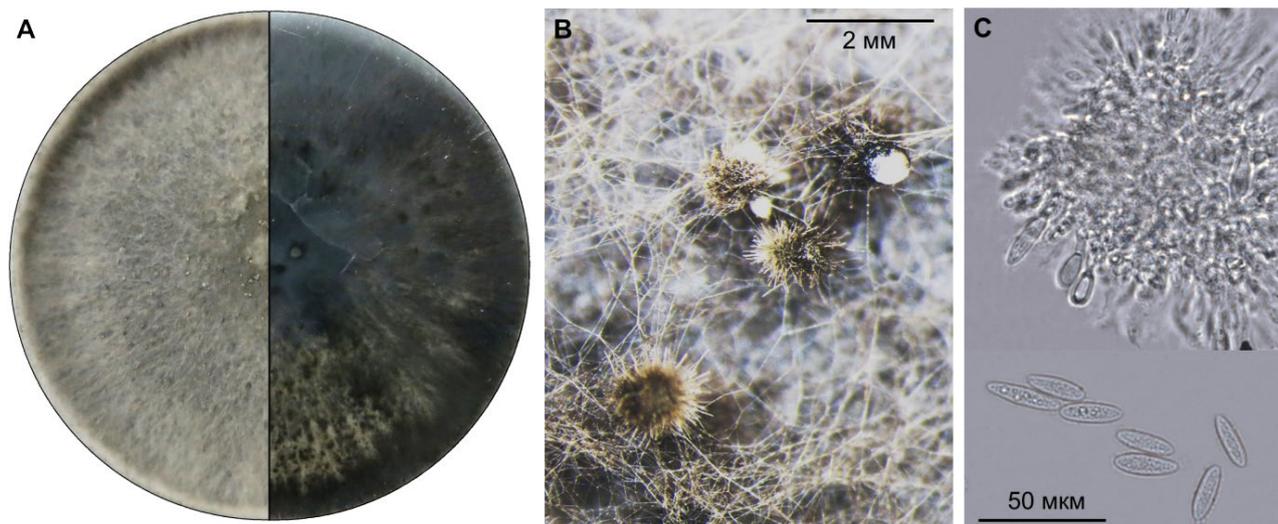


Рисунок 1. *Botryosphaeria sinensis* MF KP-12.1: А – культура на картофельно-сахарозной агаризованной среде, 7 сут., 25 °С, верхняя и нижняя стороны колонии; В – пикниды на поверхности колонии; С – конидиогенные клетки и конидии

Figure 1. *Botryosphaeria sinensis* MF KP-12.1: А – a colony on potato sugar agar, one week, 25 °C, upper and under sides; В – pycnidia on the colony surface; С – conidiogenous cells and conidia

В филогенетический анализ комбинированных последовательностей фрагментов LSU, ITS и TEF *Botryosphaeria* spp. были включены 12 последовательностей, состоящих из 1287 пар нуклеотидов (LSU – 529 п.н., ITS – 492 п.н., TEF – 266 п.н.), среди которых 1137 п.н. были консервативные, а 138 п.н. — переменные. Последовательность типового штамма CBS 227.33 *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. была выбрана в качестве внешней группы (Рис. 2). Два штамма *B. sinensis* CFCC 82255 и CGMCC 3.17723, а также исследуемый штамм MF KP-12.1 *Botryosphaeria* sp. формировали отдельную кладу с высокой бутстреп поддержкой МР/ВР 93/1.0. Степень сходства последовательностей анализированных фрагментов LSU, ITS и TEF для этих трех штаммов составляла 100%. Таким образом, принадлежность штамма MF KP-12.1 виду *B. sinensis* считали установленной.

Штамм MF KP-12.1 *Botryosphaeria sinensis* оказался патогенным для люпина белого, причем продемонстрировал высокую агрессивность. Уже на 3 сутки на отрезках листьев люпина зарегистрировано развитие крупных обводненных пятен размером 7.7±1.3 мм вокруг места нанесения инокулюма. В случае заражения целых растений, на 3 сутки степень поражения растений составила 67%, на 7 сутки – 84%, на 10 сутки зарегистрирована 100% гибель растений. Патоген был реизолирован из пораженных тканей.

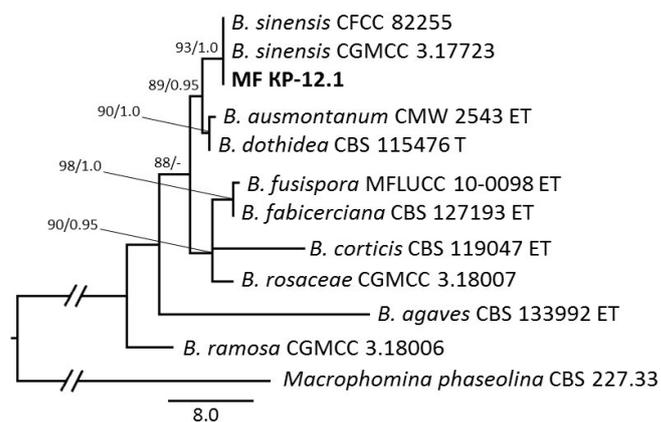


Рисунок 2. Филогенетическая реконструкция *Botryosphaeria* spp., построенная на основе комбинированных последовательностей LSU, ITS и TEF. В узлах приведены значения бутстреп-поддержки при анализе методом максимальной экономии (> 70%), а также Байесовской апостериорной вероятности (> 0.95). ET, типовой штамм

Figure 2. Phylogenetic reconstruction based on DNA sequence data from three loci (LSU, ITS and TEF) of *Botryosphaeria* spp. Maximum parsimony bootstrap support values > 70% followed by Bayesian posterior probability scores > 0.95 are shown at the nodes. The tree was rooted with *Macrophomina phaseolina* CBS 227.33 ET, ex-type strain

Информация о находках грибов *Botryosphaeria* spp. на травянистых растениях семейства бобовых довольно скудная, имеются сообщения о нахождении *B. dothidea* на антопегии в Кении (Caretta et al., 1999), баптизии в Северной Америке (Hanlin, 1963), вигне китайской в Бразилии (Mendes et al., 1998). Сведений об обнаружении грибов *Botryosphaeria* на древесных растениях семейства Fabaceae значительно больше. Вид *B. dothidea* был выявлен на около 20 видах деревьев и кустарников этого семейства (Huang et al., 2021; Farr, Rossman, 2021). Также, *B. auasmontanum* F.J.J. Van der Walt, Slippers & G.J. Marais находили на сенегалии медоносной (Slippers et al., 2014). Гриб *B. fusispora* Voonmee, J.K. Liu & K.D. Hyde вызывал заболевание энтады (Liu et al., 2012), а *B. ribis* Grossenb. & Duggar поражал багрянник (Pooler et al., 2002).

Botryosphaeria sinensis была зарегистрирована на грецком орехе, яблоне, шелковице и тополе в Китае (Zhou et al., 2016), а также на яблоне, манго и персике в Австралии (Burgess et al., 2019). Находки *B. sinensis* на представителях различных семейств Juglandaceae, Rosaceae, Moraceae,

Salicaceae, Anacardiaceae свидетельствуют об отсутствии специализации этого патогена. На растениях *Lupinus* spp. грибы рода *Botryosphaeria* ранее не отмечались. Это первое сообщение об обнаружении *B. sinensis* на люпине белом и первая находка этого гриба на территории России.

Известно, что споры близкородственного вида *B. dothidea* обильно присутствуют в воздухе и в образцах почвенной воды вблизи древесных растений с симптомами поражения данным грибом (Wang and Zhang, 2019). Среди представителей рода *Botryosphaeria* этот вид был единственным, который вызывал заболевания однолетних культурных растений – сои и табака (Bian et al., 2015; Chen et al., 2021). Вероятно, при наличии пораженных *Botryosphaeria* spp. деревьев или кустарников в разделительных полосах, споры этих грибов могут достигать культурных растений на полях и колонизировать их при благоприятных условиях. Это может приводить к появлению в микобиоте культурных растений нетипичных для них микромицетов.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 19-76-30005).

Библиографический список (References)

- Bian CH, Miao P, Kang YB (2015) First report of canker disease of flue-cured tobacco caused by *Botryosphaeria dothidea* in China. *Plant Dis* 99:890–890. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-14-1085-PDN>
- Burgess TI, Tan YP, Garnas J, Edwards J et al (2019) Current status of the Botryosphaeriaceae in Australia. *Australas Plant Pathol* 48:35–44. <https://doi.org/10.1007/s13313-018-0577-5>
- Carbone I, Kohn LM (1999) A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia* 91:553–556. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061051>
- Caretta G, Piontelli E, Picco AM, Del Frate G (1999) Some filamentous fungi on grassland vegetation from Kenya. *Mycopathologia* 145:155–169.
- Chen TM, Shi XC, Wang SY, Laborda P (2021) First report of *Botryosphaeria dothidea* causing stem canker on soybean in China. *Plant Dis* 105:1216–1216. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-20-2398-PDN>
- Chu RT, Dou ZP, He W, Zhang Y (2021) Two novel species of *Botryosphaeria* causing stem canker of blueberries from China. *Mycosystema* 40:473–486. <https://doi.org/10.13346/j.mycosystema.200333>
- Crous PW, Slippers B, Wingfield MJ, Rheeder J et al (2006) Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. *Stud Mycol* 55:235–253. <https://doi.org/10.3114/sim.55.1.235>
- Crous PW, Schoch CL, Hyde KD, Wood AR et al (2009) Phylogenetic lineages in the Capnodiales. *Stud Mycol* 64:17–47. <https://doi.org/10.3114/sim.2009.64.02>
- Farr DF, Rossman AY U.S. National Fungus Collections Fungal Database. <https://nt.ars-grin.gov/fungal-databases/> (18.10.2021)
- Hanlin RT (1963) A revision of the Ascomycetes of Georgia. *Research bulletin. University of Georgia. Georgia Agricultural Experiment Stations* 175:1–65
- Hattori Y, Ando Y, Sasaki A, Uechi N, Nakashima C (2021) Taxonomical study of noteworthy species of *Botryosphaeria* in Japan. *Mycobiology* 49:122–132. <https://doi.org/10.1080/12298093.2021.1895486>
- Huang F, Yang M, Liu J, Chen Z et al (2021) First report of *Botryosphaeria dothidea* causing stem canker and dieback of *Gleditsia sinensis* in China. *Plant Dis* 105:706–706. <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-20-1074-PDN>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura R (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Li GQ, Liu FF, Li JQ, Liu QL, Chen SF (2018) Botryosphaeriaceae from Eucalyptus plantations and adjacent plants in China. *Persoonia* 40:63–95. <https://doi.org/10.3767/persoonia.2018.40.03>
- Liu JK, Phookamsak R, Doilom M, Wikee S, Li YM (2012) Towards a natural classification of Botryosphaeriales. *Fungal Divers* 57:149–210. <https://doi.org/10.1007/s13225-012-0207-4>
- Lord E, Leclercq M, Boc A, Diallo AB, Makarenkov V (2012) Armadillo 1.1: An original workflow platform for designing and conducting phylogenetic analysis and simulations. *Plos One* 7:e29903. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029903>
- Marsberg A, Kemler M, Jami F, Nagel JH et al (2017) *Botryosphaeria dothidea*: a latent pathogen of global importance to woody plant health. *Mol Plant Pathol* 18:477–488. <https://doi.org/10.1111/mpp.12495>
- Mendes MAS, da Silva VL, Dianese LC (1998) Fungos em Plants no Brasil. Brasilia: Embrapa-SPI/Embrapa-Cenargen. 555 p.
- Pfirtner H, Defago G (1998) The potential of *Stagonospora* sp. as a mycoherbicide for field bindweed. *Biocontrol Sci Technol* 8:93–101. <https://doi.org/10.1080/09583159830469>
- Phillips AJL, Alves A, Abdollahzadeh J, Slippers B et al (2014) The Botryosphaeriaceae: genera and species known from culture. *Stud Mycol* 76:51–167. <https://doi.org/10.3114/sim0021>

- Pooler MR, Jacobs KA, Kramer M (2002) Differential resistance to *Botryosphaeria ribis* among *Cercis* taxa. *Plant Dis* 86:880–882. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2002.86.8.880>
- Slippers B, Roux J, Wingfield MJ, Van der Walt FJJ, Jami F (2014) Confronting the constraints of morphological taxonomy in the Botryosphaerales. *Persoonia* 33:155–168. <https://doi.org/10.3767/003158514X684780>
- Tang Y, Yan J, Peng Y, Weng W et al (2021) First report of *Botryosphaeria dothidea* causing gray mold on tartary buckwheat in Southwest China. *Plant Dis* <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-21-1403-PDN>
- Wang QW, Zhang CQ (2019) q-LAMP assays for the detection of *Botryosphaeria dothidea* causing chinese hickory canker in trunk, water, and air samples. *Plant Dis* 103:3142–3149. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-19-0773-RE>
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) PCR protocols: A guide to methods and applications. NY: Academic Press. 315–322. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Vilgalys R, Hester M (1990) Rapid genetic identification and mapping of enzymatically amplified ribosomal DNA from several *Cryptococcus* species. *J Bacteriol* 172:4238–4246. <https://doi.org/10.1128/jb.172.8.4238-4246.1990>
- Zhou Y, Dou ZP, He W, Zhang X, Zhang Y (2016) *Botryosphaeria sinensis* sp nov., a new species from China. *Phytotaxa* 245:43–50. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.245.1.4>
- Zhou YP, Zhang M, Dou ZhP, Zhang Y (2017) *Botryosphaeria rosaceae* sp. nov. and *B. ramosa*, new botryosphaeriaceous taxa from China. *Mycosphere* 8:162–171. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/2/2>
- Plant Protection News, 2021, 104(4), p. 213–217
 OECD+WoS: 1.06+RQ (Mycology) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15142>

Short communication

THE FIRST DETECTION OF *BOTRYOSPHAERIA SINENSIS* ON WHITE LUPINE

E.L. Gasich, A.S. Orina*

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

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

Fungal strain MF KP-12.1, which is similar in morphological and cultural characteristics to *Botryosphaeria* fungi, was isolated from the seeds of white lupine variety Dega grown in Oryol region in 2018. Phylogenetic analysis of the large rRNA subunit (LSU), elongation factor-1 α (TEF) and internal transcribed spacer (ITS) fragments was used to accurately identify the isolated strain as *B. sinensis*. When 2-week-old white lupine plants were treated under laboratory conditions with mycelial suspension of *B. sinensis* MF KP-12.1, plant damage reached 67% on day 3, and 100% plant death was observed on day 10. Pathogenicity of *B. sinensis* MF KP-12.1 was confirmed by re-isolation of the strain from damaged plant tissue. This is the first detection of *B. sinensis* on white lupine, which has not been previously reported as a host for this fungus. It is also the first detection of *B. sinensis* in Russia.

Keywords: *Lupinus albus*, legumes, seed infection, pycnidia forming fungi, DNA, pathogenicity

Submitted: 22.10.2021

Accepted: 30.11.2021

ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ ЗАСЕЛЯЕМОСТИ СОРТОВ РОЗЫ ПАУТИННЫМ КЛЕЩОМ *TETRANYCHUS URTICAE* НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ *PHYTOSEIULUS PERSIMILIS* И АКАРИЦИДОВ

В.В. Моор¹, А.И. Анисимов², Е.Г. Козлова^{3*}

¹ЗАО Агрохолдинг «Выборжец», Санкт-Петербург

²Санкт-Петербургский государственный аграрный университет

³Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

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

Обыкновенный паутинный клещ *Tetranychus urticae* – опасный многоядный вредитель сельскохозяйственных и декоративных растений. В производственных условиях выращивания розы на срезку на фоне применения акарицидов или средств биологической защиты растений (акарифагов) для борьбы с клещом различные сорта существенно (иногда в разы) различаются по степени заселяемости вредителем. При этом на слабо заселяемых сортах розы биологическая борьба с помощью хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* оказывается более эффективной, чем использование акарицидов. Для сдерживания роста численности вредителя на хозяйственно допустимом уровне на слабо заселяемых вредителем сортах Deep Water и Aqua потребовались нормы выпусков хищного клеща в 4,6–8,7 раз ниже, чем на сильно заселяемых сортах Heaven и Brazil.

Ключевые слова: сортовая изменчивость, заселенность растений, паутинный клещ, *Phytoseiulus persimilis*

Поступила в редакцию: 05.10.2021

Принята к печати: 17.12.2021

Одним из важнейших факторов влияющих не только на состав, но и на жизнеспособность вредных и полезных организмов в агробиоценозах является сорт растения. Сорта растений могут различаться по габитусу, биохимическому составу и анатомическому строению, включая размер, форму и цвет листьев, характер опушения листовых пластинок, степень развития на них воскового налета и т.д., по реакции растения на изменение температуры, влажности, освещенности, режима питания. (Шапиро и др., 1979; Cloyd, Sadof, 2000; Krips, 2000; Flores-Canales et al., 2011). Сортные особенности влияют на функционирование триотрофа «растение – фитофаг – энтомофаг» (Раздубурдин, Козлова, 2016). Знание особенностей влияния сортов на популяции вредителей и энтомофагов позволит создавать системы защиты растений от вредителей, с высокой регуляторной активностью энтомофагов, что обеспечит надежность биологической борьбы с ними в защищенном грунте.

Сортное разнообразие роз очень велико, каждый сорт представляет отдельную проблему для его биологической защиты. На розах, выращиваемых в теплицах,

обыкновенный паутинный клещ *Tetranychus urticae* Koch встречается постоянно. Наши исследования направлены на совершенствование системы защиты роз, выращиваемых в теплицах на срез, от вредителей, которая должна учитывать сортовые различия по заселяемости и интенсивности размножения паутинного клеща. Результаты исследований 2011 г., проведенных в производственных условиях тепличного комплекса ООО «Агролидер», расположенного в Выборгском районе Ленинградской области, показали, что по степени заселенности паутинным клещом, в условиях проведения выпусков хищного клеща *Phytoseiulus persimilis* А.-Н., шесть исследованных сортов можно было разделить на 3 группы (Козлова, Моор, 2012). В задачи данного этапа работы входило продолжение сравнения заселяемости шести сортов роз паутинным клещом при использовании биологических средств защиты: акарифага фитосейулюса. Кроме того, проведено сравнение эффективности применения химического и биологического средств защиты растений еще на восьми сортах роз в 2011 и 2012 гг.

Материалы и методы

Материалом исследования служили розы сортов Aqua, Avalanche, Peach Avalanche, Wow, Dark Wow, Grand Prix, Miss Piggy, Brazil, выращивавшиеся в условиях тепличного комплекса ООО «Агролидер» в 2011 и 2012 гг. в отделении № 1 (3 га). Выпуск фитосейулюса в этих теплицах проводится с 2012 г., до этого для борьбы с паутинным клещом использовали акарициды и инсектоакарициды. Материалом служили также растения сортов Heaven, Dolomiti, Hot Shot, Red Naomi, Fiesta и Deep Water, которые выращивали в отделении № 2 (1.5 га), где для борьбы с клещом с 2011 г. используется фитосейулюс (Козлова, Моор, 2012). Степень заселения растений вредителем

оценивали при обследовании всей теплицы (4.5 га) 2 раза в месяц. Мониторинг осуществляли следующим образом. Теплица разбита на участки. Каждый участок представлял собой отрезок ряда кустов роз. Длина отрезка 3.95 м, площадь участка составляла 8.02 м.кв. Количество кустов на участке от 7 до 8. Обследование заключалось в визуальном осмотре растений на участке и присваивании ему балла в соответствии со следующей шкалой: 1-й балл - паутинный клещ встречается в зоне фабрики (вегетативная масса куста, сформированная путем пригибания вниз побегов, предназначена для продуктивного фотосинтеза) или на листьях возле короны (десятки особей на заселенных

листьях); 2-й балл – паутинный клещ находится выше кроны (средняя часть куста, где производится срез побегов и их пригибка – формирование фабрики), перемещается в средний и верхний ярус продуктивных стеблей, но еще не доходит до бутона (десятки особей на заселенных листьях); 3-й балл – появление клещей и паутины на бутоне (сотни особей на растении); 4-й балл – паутина более чем на 50 % листьев, появляются «шапки» из паутины на бутонах (тысячи особей на растении); 5-й балл – всё растение в паутине, скопления фитофага на бутонах и кончиках листьев, прекращение роста побегов и их деформация, усыхание и опадение листьев (в теплицах такая ситуация не допускается).

Балл заселенности по указанной выше шкале присваивали участку, на котором 30% и более растений (кустов розы) были заселены паутинным клещом. Рассчитывали средний балл на площади каждого сорта на дату учета и принимали решение о защитных мероприятиях. Для каждого сорта по результатам 24–27 учетов рассчитывали среднегодовую заселенность паутинным клещом, а также стандартную ошибку среднего (SE).

Акарициды и инсектоакарициды, разрешенные для

Результаты и обсуждение

По результатам учетов в 2011 г. заселенности 8-ми сортов роз паутинным клещом в отделении № 1 теплицы ООО «Агролидер», после применения акарицидов для борьбы с вредителем, сорта разделились на несколько групп (рис. 1А). Минимальная заселенность растений была характерна для сортов Aqua, Peach Avalanche и Avalanche. Максимальная численность клещей отмечена на растениях сортов Brazil и Grand Prix (в 1.5 и 1.4 раза выше, чем на сорте Aqua, различия достоверны при $p < 0.001$). Немного ниже численность паутинного клеща на сорте Miss Piggy (в 1.3 раза выше, чем на сорте Aqua, $p < 0.01$, но достоверно ниже, чем на сорте Brazil, $p < 0.05$). Сорта Wow и Dark Wow заняли промежуточное положение. С одной стороны, по среднегодовой заселенности вредителем они достоверно не отличаются от сортов Avalanche и Peach Avalanche, а с другой – от сорта Miss Piggy ($p > 0.05$).

Важно отметить, что различия по степени заселенности сортов роз паутинным клещом отмечались на фоне разного числа потребованных обработок акарицидами. Наименьшее количество обработок в течении года потребовалось для сорта Aqua (4 спаренных), наибольшее – для сортов Grand Prix и Brazil (9 и 13 спаренных обработок, соответственно). Для защиты остальных сортов потребовалось меньшее число обработок (6–8 спаренных).

При осуществлении биологического способа борьбы 8 сортов роз по заселенности паутинным клещом располагаются в той же последовательности, однако распадаются уже на 4 отчетливые группы (рис. 1Б). Две наиболее контрастные группы представлены одним сортом. В первом случае это сорт Aqua, который заселялся паутинным клещом меньше всех остальных сортов (при $p < 0.001$), во втором – Brazil, заселявшийся интенсивнее, чем 5 сортов при $p < 0.001$, а также чем составляющие отдельную группу Grand Prix и Miss Piggy ($p < 0.05$). Наиболее многочисленную группу, четко отличающуюся от всех остальных, составили сорта Wow, Dark Wow, Avalanche и Peach Avalanche, среднегодовая заселяемость которых

применения на территории РФ в 2011 г. на розах (фитоверм, вертимек и актеллик), применяли в случае, если заселенность паутинным клещом превышала в среднем 2 балла. Обработки были спаренными: после первой обработки через 7 дней проводили повторную обработку. Выпуск *Ph. persimilis* осуществляли, используя сплошной и локальный (в очаги) методы. Сплошное заселение по всей площади теплиц от 3 до 10 особей на 1 м² проводили 1–2 раза в месяц. В очагах выпускали от 10 до 60 особей на куст (Чалков, 1986) еженедельно, до тех пор, пока продолжали появляться новые значительные очаги. При таком выпуске, как правило, создается необходимое соотношение хищника и жертвы 1:10 – 1:20 (Чалков, 1986; Gacheri, 2015). Если в очагах находили акарифага (1–5 особей на лист), его дополнительное применение отменяли. При выпусках фитосейулюса акарициды использовали только в тех случаях, когда заселенность роз паутинным клещом превышала 2.5 балла.

Достоверность наблюдаемых различий определяли по t-критерию Стьюдента с использованием электронных таблиц Excel.

паутинным клещом в присутствии фитосейулюса составила 1.1–1.3 балла.

Следует отметить, что на сортах двух групп, характеризующихся меньшей заселяемостью паутинным клещом, биологическая борьба с вредителем оказалась более эффективной, чем применение акарицидов (ср. рис. 1А и 1Б). Наиболее ярко это проявилось на розах сорта Aqua, где различие по заселенности растений паутинным клещом в 2011 и 2012 годах составило 3.0 раза ($p < 0.001$). Наблюдаемые различия на уровне 1.2 раза были для сортов Wow и Dark Wow достоверными ($0.05 > p > 0.01$), а для Avalanche и Peach Avalanche не достоверными. С другой стороны, для сортов следующей по заселяемости паутинным клещом группы (Miss Piggy, Grand Prix и Brazil) различия были совсем незначительными.

Естественно, что такая ситуация отразилась и на количестве вынужденных обработок акарицидами. В 2012 г. сорт Aqua не обрабатывали, на сортах Peach Avalanche, Avalanche, Dark Wow и Wow потребовалось по одной обработке, на сортах Miss Piggy и Grand Prix – по три, а сорт Brazil пришлось обработать акарицидами 10 раз.

Можно предполагать, что различия по заселяемости сортов роз паутинным клещом определяются разной интенсивностью проведенных защитных мероприятий. Однако, представленная на рисунке 1 информация о числе обработок акарицидами и объеме выпущенного фитосейулюса позволяет исключить это предположение, т.к., например, наиболее заселяемый сорт Brazil в 2011 г. пришлось обрабатывать 26 раз, а наименее заселяемый сорт Aqua всего 8 раз. В 2012 г. на эти сорта выпустили 418 и 48 особей фитосейулюса на 1 м², соответственно. Следовательно, наблюдаемые по заселяемости различия определяются особенностями сортов роз, а не защитных мероприятий.

Для оценки повторяемости отмеченных закономерностей по различной заселяемости сортов роз паутинным клещом в условиях биологической борьбы проведено сравнение этого показателя в 2011 и 2012 годах на 6-ти сортах, выращивавшихся в отделении № 2 (рис. 2).

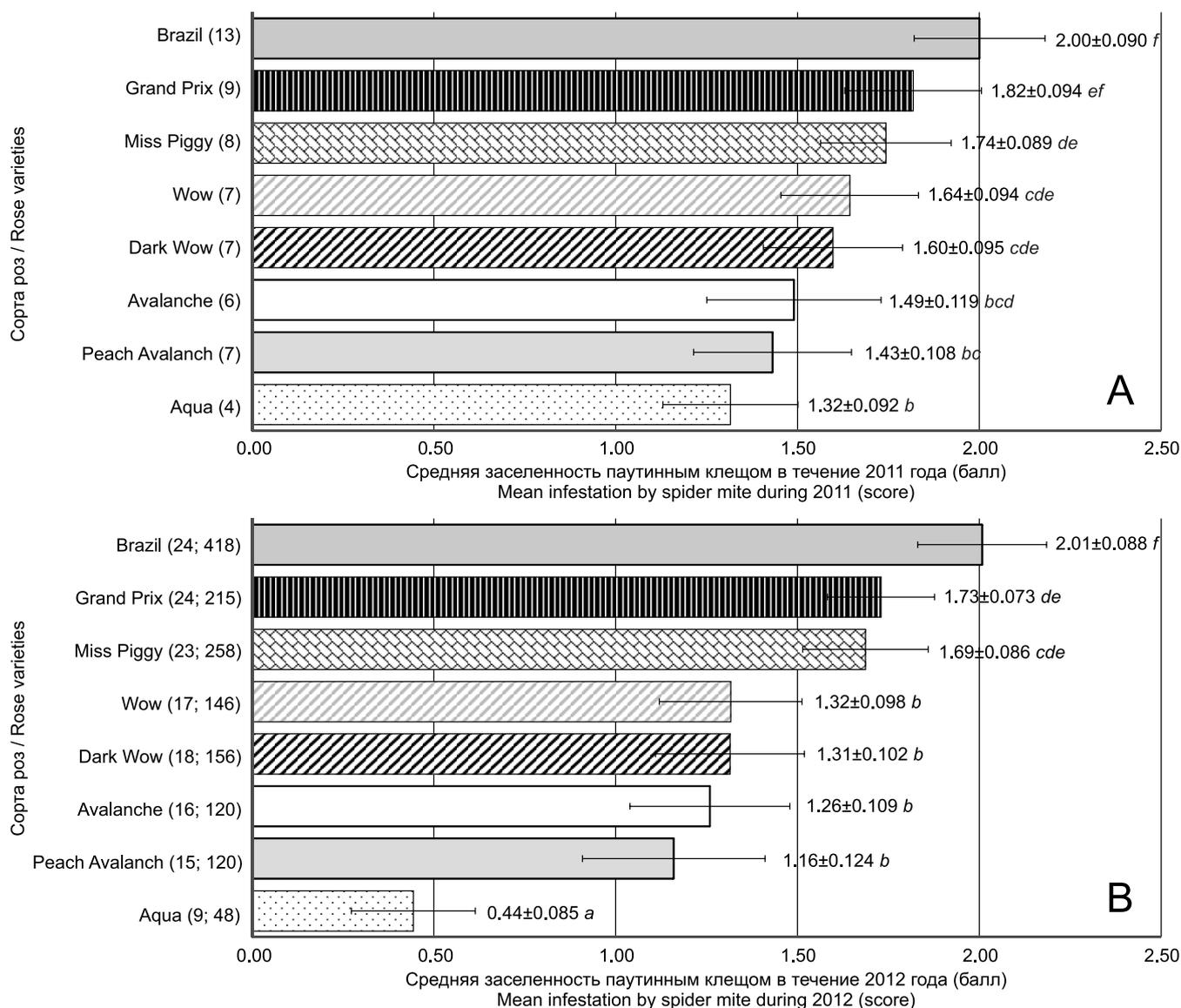


Рисунок 1. Среднегодовая заселенность паутинным клещом сортов роз в теплице, при использовании акарицидов (А) или фитосейулюса (В) для борьбы с вредителем (отделение № 1 ООО «Агролидер», Ленинградская обл., 2011 и 2012 гг.). Примечания: в скобках после названия сорта приведено число двоянных обработок акарицидами (рис. 1 А) или число и объем (особей на м²) выпусков фитосейулюса (рис. 1 В) за год; одинаковыми буквами обозначены достоверно не различающиеся значения – $p > 0.05$ по t-критерию Стьюдента; планками погрешностей обозначены доверительные интервалы для вероятности 0.95

Figure 1. Mean annual abundance of two-spotted spider mites on different varieties of roses grown in a commercial greenhouse (Agroleader Company, Leningrad Region, 2011–12) under (A) chemical control and (B) biological control using *Phytoseiulus persimilis*. Numbers in parentheses following varietal names indicate numbers of acaricidal treatments (Fig. 1A) or biocontrol releases (Fig. 1B) per year. Means followed by the same letters were not significantly different from each other (Student t-test, $P > 0.05$). Error bars indicate 95% confidence intervals

Последовательность исследованных сортов по уровню среднегодовой заселяемости паутинным клещом, отмеченная в 2011 г. (Козлова, Моор, 2012), в целом сохраняется и в 2012 г., но не полностью. Поменялись местами только наиболее заселяемые сорта Heaven и Dolomiti, которые по этому показателю близки друг к другу и достоверно не различаются.

Разделение сортов на группы по уровню заселяемости в 2012 г. (рис. 2Б) проявилось более контрастно, чем в 2011 г. (рис. 2А). Более отчетливо выделяются группы сильно- (Dolomiti, Heaven) и средnezаселяемых (Red Naomi, Hot Shot) сортов. Группа слабо заселяемых сортов распалась на две, в связи с высоко достоверным отличием ($p < 0.001$)

среднегодовой заселенности сортов Fiesta и Deep Water в 2012 г. Сорт Deep Water заселялся слабее остальных пяти сортов в 2.04, 2.61, 2.63, 3.19 и 3.23 раза (см. рис. 2А), в то время как заселенность сорта Fiesta была ближе к средnezаселяемым сортам и достоверно от них не отличалась.

Также необходимо отметить, что в 2011 г. на сортах Deep Water и Fiesta количество выпущенного фитосейулюса было одинаковым, а в 2012 г., в сложившейся фитосанитарной обстановке, фитосейулюса на сорте Deep Water потребовалось применить в 2.5 раза меньше, чем в 2011 г., а на сорте Fiesta – только в 1.2 раза меньше. На сортах со средней и высокой заселенностью вредителем в 2012 г. потребовавшееся количество фитосейулюса достоверно

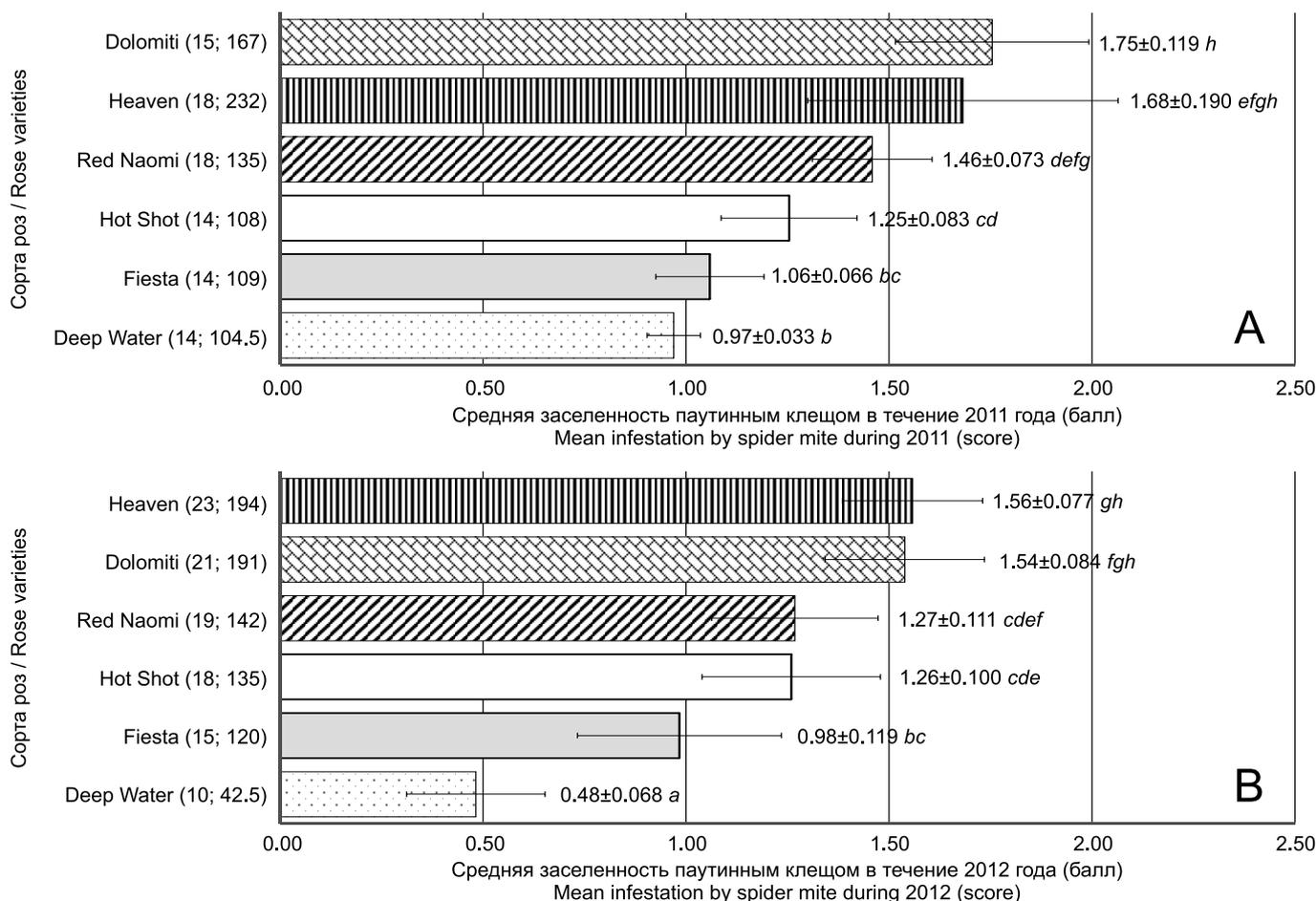


Рисунок 2. Среднегодовая заселенность паутиным клещом сортов роз, выращивавшихся в отделении № 2 в 2011 (А, по данным Козловой, Моор, 2012) и 2012 (В) годах, при использовании фитосейюлуса для борьбы с вредителем (ООО «Агролидер», Ленинградская обл.). Примечания как на рисунке 1В

Figure 2. Mean annual abundance of two-spotted spider mites on different varieties of roses grown in a commercial greenhouse (Agroleader Company, Leningrad Region, 2012) under biological control using *Phytoseiulus persimilis*. Indications as in Fig. 1

не отличалось от количества выпущенного в 2011 г., за исключением сорта Heaven, где фитосейюлуса внесли в 1.2 раза меньше ($p < 0.05$). Но в целом нормы внесения акарифага на сортах со средней и высокой заселенностью вредителем в 2012 г. достоверно ($p < 0.05$) больше, чем на сорте Fiesta – в 1.5 и в 2.5 раза, соответственно. Таким образом, на сортах, выращивавшихся в отделении № 2, наблюдалась та же тенденция, что и на сортах в отделении №1: применение акарифага оказалось более эффективным на сортах с минимальной заселенностью вредителем, что отразилось и на норме внесения фитосейюлуса при последовательном использовании акарифага на протяжении двух лет (рис. 2) (Моор, Козлова, 2021).

В производственных условиях выращивания культуры розы на срезку на фоне использования акарицидов и биологической борьбы с паутиным клещом отдельные сорта

существенно (в некоторых случаях в разы) различаются по среднегодовой заселяемости вредителем. При этом на слабо заселяемых сортах розы биологическая борьба, с помощью хищного клеща фитосейюлуса оказывается более эффективной, чем использование акарицидов. Важно, что, независимо от способа и интенсивности применения мер борьбы, ранги заселенности сортов были идентичны.

Для более полного понимания значимости сортовых особенностей и выявления механизмов, влияющих на развитие паутинового клеща на розах, необходимы дополнительные лабораторные эксперименты по оценке состояния имагинальных и преимагинальных стадий развития фитофага (выживаемости и продолжительности развития) при питании на различающихся по заселяемости сортах (Попов и др., 2009; Golizadeh et al., 2017; Sandeepa, et al., 2019).

Библиографический список (References)

- Козлова ЕГ, Моор ВВ (2012) Применение *Phytoseiulus persimilis* против паутинового клеща на разных сортах роз. *Защита и карантин растений* (12): 16–20.
- Моор ВВ, Козлова ЕГ (2021) Многолетнее применение фитосейюлуса против паутинового клеща на розе. *Защита и карантин растений* (11):15–19. <http://doi.org/10.47528/1026-8634-2021-11-15>
- Попов СЯ, Слотин ВВ, Борисов АВ, Кондряков АВ (2009) Оценка устойчивости гибридов и сортов огурца к паутиному клещу *Tetranychus atlanticus* McGregor *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии* (3):110–123.
- Раздубурдин ВА, Козлова ЕГ (2016) Взаимодействия в системе «растение – паутиновый клещ *Tetranychus urticae* Koch (Acarina, Tetranychidae) – клещедная

- галлица *Feltiella* sp. (Diptera, Cecidomiidae)» на различных сортообразцах огурца. *Энтомологическое обозрение* 95(4):748–757.
- Чалков АА (1986) Биологическая борьба с вредителями овощных культур защищенного грунта. М.: Россельхозиздат. 95 с.
- Шапиро ИД, Вилкова НА, Новожилов КВ, Воронин КЕ и др. (1979) Эколого-физиологические основы триотрофа и стратегия защиты растений. *Экологическая физиология насекомых и проблемы защиты растений. Труды ВИЗР*: 5–17.
- Cloyd RA, Sadof CS (2000) Effects of plant architecture on the attack rate of *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae), a parasitoid of the citrus mealybug (Homoptera: Pseudococcidae). *Environ Entomol* 29:535–541. <http://doi.org/10.1603/0046-225X-29.3.535>
- Flores-Canales R, Mendoza-Villareal R, Landeros-Flores J, Cerna-Chávez E et al (2011) Caracteres morfológicos y bioquímicos de Rosa x hybrid contra *Tetranychus urticae* Koch en invernadero. *Rev Mex Cienc Agric Pub Esp* (3):473–482.
- Gacheri C, Kigen Th, Sigsgaard L (2015) Hot-spot application of biocontrol agents to replace pesticides in large scale commercial rose farms in Kenya. *BioControl* 60(6):1–9. <http://doi.org/10.1007/s10526-015-9685-0>
- Golizadeh A, Ghavidel S, Razmjou J, Fathi SAA et al (2017) Comparative life table analysis of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) on ten rose cultivars. *Acarologia* 57(3):607–616. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20174176>
- Krips OE (2000) Plant effects on biological control of spider mites in the ornamental crop Gerbera. *PhD Thesis*. Wageningen, Netherlands. 113 p.
- Sandeepra AR, Pradeep S, Thara KT, Sridhara S (2019) Biology of *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) on carnation under laboratory condition. *J Entomol Zool Stud* 7(1): 1394-1398.

Translation of Russian References

- Kozlova EG, Moor VV (2012) [Application of *Phytoseiulus persimilis* against spider mites on different varieties of roses] *Zashchita i karantin rastenij* (12):16–20 (in Russian).
- Moor VV, Kozlova EG (2021) [Long-term use of phytoseiulus against spider mites on a rose] *Zashchita i karantin rastenij* (11):15–19. <http://doi: 10.47528/1026-8634-2021-11-15> (in Russian).
- Popov SYa, Slotin VV, Borisov AV, Kondryakov AV (2009) [Evaluation of cucumber hybrids and varieties resistance to the spider mite *Tetranychus atlanticus* McGregor] *Izvestiya Timiryazevskoj sel'skohozyajstvennoj akademii* (3):110–123 (in Russian).
- Razdoburdin VA, Kozlova EG (2016) [Interactions in the “host plant – the spider mite *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) – the predatory midge *Feltiella* sp. (Diptera, Cecidomiidae)» system on cucumber cultivars] *Entomologicheskoe obozrenie* 95(4):748–757 (in Russian).
- Chalkov AA (1986) [Biological pest control of vegetable crops in greenhouses]. Moscow: Rosselkhozizdat. 95 p. (In Russian).
- Shapiro ID, Vilkova NA, Novozhilov KV, Voronin KE et al (1979) [Ecological and physiological foundations of a triotroph and plant protection strategy] *Ekologo-fiziologicheskie osnovy triotrofa i strategiya zashchity rastenij. Trudy VIZR*: 5–17. (In Russian).

Plant Protection News, 2021, 104(4), p. 218–222

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15129>

Short communication

VARIABILITY OF INFESTATION OF ROSE VARIETIES BY THE SPIDER MITE *TETRANYCHUS URTICAE* UNDER CONDITIONS OF APPLICATION OF *PHYTOSEIULUS PERSIMILIS* OR ACARICIDES

V.V. Moor¹, A.I. Anisimov², E.G. Kozlova^{3*}

¹JSC Agricultural holding “Vyborzhets”, St. Petersburg, Russia

²St. Petersburg State Agrarian University, St. Petersburg, Russia

³All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

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

The two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* is a dangerous polyphagous pest of agricultural and ornamental plants. In a commercial greenhouse treated with acaricides or biological control using predatory mite *Phytoseiulus persimilis* individual varieties of roses differed significantly in terms of the average annual infestation by the pest mite. On the poorly populated rose varieties, the biological control agent application was more effective as compared to the acaricides. To effectively control the pest, the required predatory mite rates were 4.6–8.7 times higher on varieties with a minimal spider mite infestation (Aqua and Deep Water) as compared to the maximal pest infestation (Heaven and Brazil).

Keywords: rose variety, plant infestation, two-spotted spider mite, *Phytoseiulus persimilis*

Submitted: 05.10.2021

Accepted: 17.12.2021

© Moor V.V., Anisimov A.I., Kozlova E.G., published by All-Russian Institute of Plant Protection (St. Petersburg).

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0

(<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

CHARACTERIZATION OF *ZYMOSEPTORIA TRITICI* POPULATIONS IN BELARUS BY MORPHOLOGIC AND CULTURAL FEATURES

N.A. Krupenko*, I.N. Odintsova

Institute of Plant Protection, Priluki, Minsk district, Belarus

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

Septoria leaf blotch caused by *Zymoseptoria tritici* is one of the most harmful diseases in Belarus. Isolates of the pathogen were obtained from northern, central and southern populations: in 2018–2019, which varied significantly among in the structure of colonies. The rate of fungal isolates forming yeast-like colonies decreased from 55.0% in the North of Belarus to 6.7% in the South, whereas incidence of filamentous isolates increased from 31.3% to 80.0%, respectively. In the northern population, phenotypic diversity was high, while in the southern population it was the lowest (Shannon's index was 1.53 and 1.14, respectively).

Keywords: morphological features, population, Septoria leaf blotch, sporulation, *Zymoseptoria tritici*

Submitted: 13.07.2021

Accepted: 03.12.2021

Introduction

The fungus *Zymoseptoria tritici* (Desm.) Quaedvl. & Crous (synonym *Septoria tritici* Desm.) is among the main causative agents of Septoria leaf blotch in many regions of the world (Fones, Gurr, 2015; Torriani et al., 2015; Zeleneva, 2019), including Belarus (Krupenko et al., 2017). The disease harmfulness is displayed as yield decrease up to 50% (Torriani et al., 2015). Under *in vitro* conditions *Z. tritici* forms colonies which differ in color, shape, colony type and other characters (Cordo et al., 1997; Sudnikova et al., 2010; Vechet, Vydrova, 2011; Zeleneva, 2019).

In Belarus, studies of morpho-cultural features of *Z. tritici* have been initiated in 2011 (Sklimenok et al., 2011; Sklimenok, Buga, 2012). It has been established that isolates from different populations formed predominately yeast-like black corrugated colonies with or without pink margin at frequency rates of 64 and 43%, respectively (Sklimenok, 2015). Further studies of morpho-cultural properties of *Z. tritici* are of interest for consequent monitoring of fungicide sensitivity and other important biological features.

Materials and Methods

The studies have been performed in laboratory of phytopathology of Institute of Plant Protection in Priluki, Minsk region, Belarus. The Septoria leaf blotch-affected leaves of winter wheat have been sampled in 2018 and 2019 during surveys across northern, central and southern agroclimatic zones of the Republic, which provided for the designation of the respective populations of the fungus.

The leaves have been taken from each field in diagonal direction at the distance of at least 5 m. The sampled specimens have been air-dried and stored at +4°C. Potato sugar agar (PSA) was used to study morpho-cultural properties of the fungus (Sklimenok et al., 2011). A pycnidium has been excised

from the leave with a needle and placed into a 100 µl drop of sterile water on the surface of PSA medium supplemented with 5% of streptomycin then the drop has been smeared over the medium. The plates were incubated for 7–10 days at 20°C. Then one of the newly emerged colonies was sown to obtain one monoonidial isolate per leaf (Sklimenok et al., 2011). Each isolate has been grown in four replicates and grown at 20°C for 30 days to define morphotype, size and spore production intensity of the colonies according to Sanin et al. (2008) and Sanina (1991). Morphological diversity of the populations has been accessed using Shannon's index (Kolmer et al., 2003).

Results and Discussion

Zymoseptoria tritici isolates formed yeast-like, mycelial and mixed types of colonies with varied frequencies. Yeast-like colonies were predominant in northern populations (55%) while in southern ones, mycelial colonies were prevailing (80%). In the central agroclimatic zone, the quotes of yeast-like and mixed types were about the same (36–37%).

The analyzed populations of *Z. tritici* were variable in morphology (Table 1). As many as eight morphotypes of the fungus were found with black corrugated yeast-like colonies (morphotype I b) as the most abundant (43.0%) in the northern population. In central population, there were six morphotypes,

where Ib colonies were the most frequent (31.0%) and the frequencies of mixed and (II a) and mycelial colonies (III a) were also relatively high – 25.6 and 27.8%, respectively. In southern agroclimatic zone, only four morphotypes were present, and white or grey mycelial colonies (III a) were prevailing at the rate of 53%. Thus, the highest phenotypic diversity of the fungal isolates is detected in the northern population. This can be explained by hydrothermal condition, as this part of the Republic is distinguished by lower average daily temperature values and high precipitation rates.

Table 1. Differentiation of *Zymoseptoria tritici* populations based on their morphotypes

Population	Morphotype frequency, %								Shannon's Index
	Yeast-like			Mixed			Filamentous		
	I a	I b	I c	II a	II d	II e	III a	III b	
Northern	1.6	43.0	10.6	7.4	4.7	1.6	28.0	3.1	1.53
Central	0.0	31.0	5.6	25.6	1.5	0.0	27.8	8.5	1.23
Southern	0.0	6.7	0.0	13.3	0.0	0.0	53.3	26.7	1.14

Таблица 1. Дифференциация популяций гриба *Zymoseptoria tritici* по морфотипам

Популяция	Частота встречаемости морфотипа, %								Индекс Шеннона
	Дрожжеподобный			Смешанный			Мицелиальный		
	I a	I b	I a	II a	I a	II e	I a	III b	
Северная	1.6	43.0	10.6	7.4	4.7	1.6	28.0	3.1	1.53
Центральная	0.0	31.0	5.6	25.6	1.5	0.0	27.8	8.5	1.23
Южная	0.0	6.7	0.0	13.3	0.0	0.0	53.3	26.7	1.14

Variability of *Z. tritici* isolates is confirmed by studies performed in Russia (Sudnikova et al., 2010; Zeleneva, 2019), Czech Republic (Vechet, Vydrova, 2011), Argentina (Cordo et al., 1997) and Alger (Harrat, Bouznad, 2018). Meanwhile, the connections between colony morphology and virulence of the fungal isolates remain unclear. For instance, Cordo et al. (1997)

reported that mycelial forms are more virulent while Zeleneva (2019) attributed this feature to the yeast-like ones.

The fungal isolates also displayed variation in colony diameter from 1.2 cm in the northern population to 1.6 cm in the central one and in sporulation intensity which was maximal (23.0 mln spores/cm²) in the northern population and minimal (7.8 mln spores/cm²) in the southern one (Table 2).

Table 2. Differentiation of *Zymoseptoria tritici* populations based on their growth rate and sporulation intensity

Population	Colony diameter, cm	Sporulation intensity, million spores/cm ²
Northern	1.2±0.0	23.0±2.3
Central	1.6±0.0	12.2±1.4
Southern	1.5±0.1	7.8±1.6

NB. Mean and standard error values are given.

Таблица 2. Дифференциация популяций гриба *Zymoseptoria tritici* по скорости роста и интенсивности спороношения

Популяция	Диаметр колоний, см	Интенсивность спороношения, млн спор/см ²
Северная	1.2±0.0	23.0±2.3
Центральная	1.6±0.0	12.2±1.4
Южная	1.5±0.1	7.8±1.6

Примечание. Представлены средние значения показателя ± стандартная ошибка.

The obtained data reveal remarkable phenotypic diversity of the fungus *Z. tritici* in Belarus. The variation can be found between the isolates originating from different populations, but also from the same field and even from a single host plant leaf (McDonald, Martinez, 1990; Linde et al., 2002).

The outcomes of this direction of research may have

practical implications concerning sensitivity to active antifungal substances. In particular, strobilurins are known to be more active against the fungal spores (Balba et al., 2007) largely present in the yeast-like colonies, while azoles primarily act on the mycelium (Mueller et al., 2013) and may be thus more effective against the mycelial form of *Z. tritici*.

The study is supported by Belarus Republic Foundation for Basic Research, project # B19M-073.

References

- Balba H (2007) Review of strobilurin fungicide chemicals. *J Environ Sci Health, Part B*. 42(4):441–451. <https://doi.org/10.1080/03601230701316465>
- Cordo CA, Perelló AE, Alippi HE, Arriaga HO (1997) Monocultural variants of *Septoria tritici* isolates *Rev Iberoam Micol* 14: 168–172
- Fones H, Gurr S (2015) The impact of *Septoria tritici* blotch disease on wheat: an EU perspective *Fung Genet Biol* 79: 3–7. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.004>
- Harrat W, Bouznad Z (2018) Prevalence, cultural and pathogenic characterization of *Zymoseptoria tritici*, agent of wheat septoria leaf blotch, in Algeria *Afr J Agr Sci* 13:2146–2153. <https://doi.org/10.5897/AJAR2018.13434>
- Kolmer JA, Long DL, Kosman E, Hughes ME (2003) Physiologic specialization of *Puccinia triticina* on wheat in the United States in 2001 *Plant Dis* 87: 859–866. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.7.859>
- Krupenko NA, Zhuk EI, Buga SF, Zhukovskiy AG (2017) [Septoria leaf blotch of cereal crops and its harmfulness]. *Vesti Natsionalnoy Akademii Nauk Belarusi. Seriya Agrarnykh Nauk* 4: 66–75 (In Russian)
- Linde CC, Zhan J, McDonald BA (2002) Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents *Phytopath* 92(9): 946–955. <https://doi.org/10.1094/phyto.2002.92.9.946>

- McDonald BA, Martinez JP (1990) DNA restriction fragment length polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) isolates collected from a single wheat field *Phytopathology* 80(12): 1368–1373
- Mueller D, Wise K, Dufault N, Bradley C, Chilvers M (2013) Fungicides for Field Crops. APS Press, St Paul, MN. 112 p.
- Sanin SS, Neklesa NP, Sanina AA, Pakholkova EV (2008) [Methodical recommendations for preparing artificial inoculation for immunogenetic investigations]. Moscow. 68 p. (In Russian)
- Sanina AA (1991) [Physiological specialization of *Septoria tritici* Rob. et Desm. Mikologia i fitopatologia]. *Mikologia i fitopatologia* 25(4): 338–342 (In Russian)
- Sklimenok NA (2015) [Complex of fungi that parasitize on winter wheat and measures for limitation their harmfulness]. Abstr. Dr. Biol. Thesis. Priluki. 23 p (In Russian)
- Sklimenok NA, Buga SF (2012) [Characteristic of morphological and cultural features of *Septoria tritici* Rob. & Desm. isolates]. *Zashchita rasteniy: sbornik nauchnykh trudov* 36: 140–147 (In Russian)
- Sklimenok NA, Buga SF, Zhukovskiy AG, Plyuk AG (2011) [Morphological and cultural features of growth of *Septoria tritici* Rob. & Desm. Isolates causal agent of *Septoria tritici* blotch of winter wheat on agar medium]. *Zashchita rasteniy: sbornik nauchnykh trudov*. 35: 113–119 (In Russian)
- Sudnikova VP, Plakhotnik VV, Zeleneva YV (2010) [To a question of selection of spring wheat varieties to resistance to *Septoria tritici* Rob et Desm) in the conditions of CBER]. *Agrarnyy vestnik Yugo-Vostoka* 1(4): 29–31 (In Russian)
- Torriani SFF, Melichar JPE, Mills C, Pain N et al. (2015) *Zymoseptoria tritici*: a major threat to wheat production, integrated approaches to control *Fung Gen Biol* 79: 8–12. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2015.04.010>
- Vechet L, Vydrova E (2011) Differences in aggressiveness and morphology of *Mycosphaerella graminicola* isolates causal agent of *Septoria tritici* blotch on wheat *J Agr Sci Tech A* 1(3A): 386–393
- Zeleneva YV (2019) [Support of genetic protection of harmful diseases in the conditions of Central black earth region]. Abstr. Dr. Sci. Thesis. Pushkin – Saint-Petersburg. 473 p. (In Russian)
- Вестник защиты растений, 2021, 104(4), с. 223–225
- OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2021-104-4-15053>

Краткое сообщение

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ГРИБА *ZYMOSEPTORIA TRITICI* В БЕЛАРУСИ ПО МОРФОЛОГО-КУЛЬТУРАЛЬНЫМ ПРИЗНАКАМ

Н.А. Крупенько*, И.Н. Одинцова

Институт защиты растений, аг. Прилуки, Минский р-н, Беларусь

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

Септориоз листьев озимой пшеницы, вызываемый грибом *Zymoseptoria tritici*, – одна из наиболее распространенных и вредоносных болезней в Беларуси. Проведено изучение морфолого-культуральных признаков изолятов гриба, выделенных из трех агроклиматических зон (популяций): северной, центральной и южной в 2018–2019 гг. Выявлена значительная вариабельность изолятов гриба *Z. tritici* по структуре колоний. Установлено, что доля изолятов, образующих дрожжеподобные колонии, снижается с 55.0% в северной части республики до 6.7% в южной, тогда как частота встречаемости мицелиальных колоний возрастает с 31.3% до 80.0%, соответственно. Большое разнообразие морфологических типов колоний отмечено в северной популяции, наименьшее – в южной (индекс Шеннона составил соответственно 1.53 и 1.14).

Ключевые слова: морфологические признаки, популяция, септориоз, спороношение, *Zymoseptoria tritici*

Поступила в редакцию: 13.07.2021

Принята к печати: 03.12.2021

О ЖУРНАЛЕ

Цели и задачи

Научно-теоретический рецензируемый журнал **“Вестник защиты растений”** публикует результаты оригинальных исследований, обзорные работы, дискуссионные заметки и хронику событий, имеющих отношение к защите растений.

Охват научных интересов журнала включает все аспекты растениеводства, касающиеся здоровья растений, в том числе биологию, экологию, таксономию, идентификацию и культивирование вредных и полезных организмов; прогноз и регуляцию численности вредителей, возбудителей

болезней и сорных растений; иммунитет растений, резистентность вредных объектов к пестицидам и т.д.

Журнал пропагандирует современные методы защиты растений, направленные на фитосанитарную оптимизацию агроэкосистем, включая молекулярную диагностику и генетико-селекционные подходы к созданию устойчивых сортов растений и биологических средств борьбы с вредными объектами; фитосанитарный мониторинг; инновационные подходы, технологию, экономику и экологическую безопасность применения средств защиты растений.

Общая информация

Периодичность выхода журнала 4 раза в год. Электронные версии статей в формате PDF публикуются в открытом доступе на сайте журнала. Журнал публикует рукописи на русском или английском языке. Плата за обработку и публикацию рукописей не взимается.

Основан в 1939 г. Издание возобновлено в 1999 г.

Издатель: **Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ФГБНУ ВИЗР)**

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

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

Индексация и архивирование

Журнал индексируется в **CrossRef** (DOI: 10.31993/1727-1320), Директории политик открытого доступа **Sherpa/Romeo** и Директории научных ресурсов открытого доступа (**ROAD**) на портале **ISSN**, а также в **РИНЦ**. Полнотекстовые версии опубликованных материалов архивируются на **сайте журнала** (<http://plantprotect.ru/index.php/vizr/issue/archive>) и в Национальной электронной библиотеке **eLIBRARY.RU**. Авторам рекомендуется размещать опубликованные работы в научной социальной сети **ResearchGate** и на других ресурсах.

Всероссийский институт защиты растений входит в перечень издателей, поддерживающих инициативы

открытых цитирований (**Initiative for Open Citations**) и открытых аннотаций (**Initiative for Open Abstracts**).

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание учёной степени кандидата и доктора наук, по следующим специальностям: 1.5.14 (Энтомология), 1.5.18 (Микология), 4.1.1 (Общее земледелие. Растениеводство), 4.1.2 (Селекция, семеноводство и биотехнология растений), 4.1.3 (Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений), 4.1.4 (Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры).

Открытый доступ

Полное содержание выпусков журнала доступно бесплатно непосредственно после публикации в рамках модели Libre Open Access (см. определение [здесь](https://blog.doaj.org/2020/11/17/what-does-doaj-define-as-open-access/) – <https://blog.doaj.org/2020/11/17/what-does-doaj-define-as-open-access/>).

Полнотекстовые статьи доступны на сайте журнала (раздел **“Архивы”**), который планируется поддерживать

для сохранения доступа даже в случае прекращения издания. Также свободный доступ к материалам имеется в **Национальной Электронной Библиотеке**. Список источников архива журнала приводится на сайте и постоянно обновляется.

ABOUT THE JOURNAL

Aims and Scope

“**Plant Protection News**” is a scientific peer-reviewed journal which publishes results of original research, reviews, discussion notes and chronicles related to plant protection.

The Journal’s scope covers all topics related to plant health, including, but not restricted to, biology, ecology, taxonomy, identification and rearing of harmful and beneficial organisms; forecasting and managing pests, diseases, and weeds; plant immunity; pesticide resistance, etc.

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

General Information

Four issues are published per year. Papers are published in Russian or English, while all abstracts are provided in both languages.

Founded in 1939, resumed in 1999.

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

Publisher: [All-Russian Institute of Plant Protection](#).

Registered by the State Committee of Russian Federation for Print and Publishing under # 017839 on July 03 1998.

Indexing and Archiving

The journal is indexed in [CrossRef](#) (DOI: 10.31993/1727-1320), Directory of Open Access Policies [Sherpa/Romeo](#) and Directory of Open Access Scholarly Resources ([ROAD](#)) at the [ISSN Portal](#).

Full-text versions of published materials are archived at the [Journal website](#) (<http://plantprotect.ru/index.php/vizr/issue/archive>) and the National Electronic Library of Russian Federation ([eLIBRARY.RU](#)). Authors are encouraged to deposit their published papers in the scientific social network [ResearchGate](#) and other resources.

All-Russian Institute of Plant Protection is listed among the Publishers participating in the [Initiative for Open Citations](#) and [Initiative for Open Abstracts](#).

The [Higher Attestation Committee](#) of the Ministry of Science and Higher Education of Russian Federation includes “Plant Protection News” in its index of outlets recommended for publishing to the authors planning to defend dissertations in the fields of Entomology; Mycology; Agronomy; Selection, Seed production and Biotechnology of Plants; Agrochemistry; Agricultural Soil Science; Plant Protection and Quarantine; Pomology, Horticulture, , Viticulture and Medicinal Plants).

Open Access Policy

Full contents of the Journal’s issues are available for free immediately after publication on the journal’s website under the Libre Open Access model (see definition here – <https://blog.doaj.org/2020/11/17/what-does-doaj-define-as-open-access/>).

Full-text articles on the Journal’s website ([Archives section](#)) should remain accessible even if the Journal is no longer published. Another option to freely access the full Journal’s content is the [National Electronic Library](#). The Journal’s archive is updated on a regular basis.

НОВЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДКОЛЛЕГИИ ЖУРНАЛА «ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ»

NEW MEMBERS OF THE “PLANT PROTECTION NEWS” EDITORIAL BOARD

Состав редакционной коллегии «Вестника защиты растений» продолжает пополняться новыми членами с целью расширения географического охвата и круга научных компетенций редколлегии. Представляем нового члена - учёного, работающего на мировом уровне в области биологии, касающихся проблем, освещаемых журналом.

Мишель Кюссон

PhD, ученый-исследователь Лесной службы Канады Министерства природных ресурсов Канады; доцент Университета Лавала, Канада. Специалист в области экофизиологии и инфекционной патологии насекомых, геномного и протеомного анализа насекомых-фитофагов и их естественных врагов, разработки молекулярно-генетических подходов, технологий и средств диагностики и борьбы с вредителями лесного хозяйства.

Публикаций в SCOPUS: 117

Цитирований в SCOPUS: 2460

H-индекс в SCOPUS: 27

The Editorial Board of the journal “Plant Protection News” keeps on replenishing with novel members as to extend its geographic range and competencies. Here we present a new member, who is a world-class specialist in the field of biology, related to the problems within the Journal’s scope.

Michel Cusson

PhD, Research scientist of Canadian Forest Service at Natural Resources Canada; adjunct professor of Université Laval, Canada. A specialist in ecophysiology and infectious disease pathology of insects; genomic and proteomic analysis of phytophagous insects and their natural enemies; as well as development of molecular genetic approaches, technologies and means of diagnostics and control of forest pests.

Publications in SCOPUS: 117

Citations in SCOPUS: 2460

H-index in SCOPUS: 27

Список последних публикаций М. Кюссона

Recent publications by M. Cusson

- Djoumad A., Tanguay P, Régnière J, Trudel G, Mlarrison A, Fournier C, Carleton D, Nisole A, Stewart D, **Cusson M** (2022) Development of a qPCR-based method for counting overwintering spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) larvae collected during fall surveys and for assessing their natural enemy load: a proof-of-concept study. *Pest Manag Sci* 78(1):336–343. <https://doi.org/10.1002/ps.6645>
- Legault S, Wittische J, **Cusson M**, Brodeur J, James, P.M.A. (2021) Landscape-scale population connectivity in two parasitoid species associated with the spruce budworm: Testing the birdfeeder effect using genetic data. *Mol Ecol* 30(22):5658–5673. <https://doi.org/10.1111/mec.16160>
- Maaroufi H, Potvin M, **Cusson M**, Levesque RC (2021) Novel antimicrobial anionic cecropins from the spruce budworm feature a poly-L-aspartic acid C-terminus. *Proteins* 89(9):1205–1215. <https://doi.org/10.1002/prot.26142>
- Sparks ME, Hebert FO, Johnston JS, Hamelin RC, **Cusson M**, Levesque RC, Gundersen-Rindal DE (2021) Sequencing, assembly and annotation of the whole-insect genome of *Lymantria dispar dispar*, the European gypsy moth. *G3* 11(8):jkab150. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkab150>
- Martel V, Morin O, Monckton SK, Eiseman CS, Béliveau C, Cusson M, Blank SM (2021) Elm zigzag sawfly, *Aproceros leucopoda* (Hymenoptera: Argidae), recorded for the first time in North America through community science. *Can Entomol* <https://doi.org/10.4039/tce.2021.44>
- Picard ME, **Cusson M**, Sen SE, Shi R (2021) Rational design of Lepidoptera-specific insecticidal inhibitors targeting farnesyl diphosphate synthase, a key enzyme of the juvenile hormone biosynthetic pathway. *J Pestic Sci* 46(1):7–15. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D20-078>
- Volkoff A-N, **Cusson M** (2020) The unconventional viruses of ichneumonid parasitoid wasps. *Viruses*, 2020, 12(10):1170
- French RLK, Lebusasin PNA, Brunet BMT, Lumley LM, **Cusson M**, Levesque RC, Sperling FAH (2020) Reuse of voucher specimens provides insights into the genomic associations and taxonomic value of wing colour and genitalic differences in a pest group (Lepidoptera: Tortricidae: Choristoneura). *Syst Entomol* 45(3):583–593. <https://doi.org/10.1111/syen.12416>
- Nisole A, Stewart D, Kyei-Poku G, Nadeau M, Trudeau S, Huron P, Djoumad A, Kamenova S, Smith MA, Eveleigh E, Johns RC, Martel V, **Cusson M** (2020) Identification of spruce budworm natural enemies using a qPCR-based molecular sorting approach. *Forests* 11(6):1–20, 621. <https://doi.org/10.3390/f11060621>
- Lumley, L.M.; Pouliot, E.; Laroche J; Boyle, B.; Brunet, B.M.T.; Levesque RC.; Sperling, F.A.H.; **Cusson M** (2020) Continent-wide population genomic structure and phylogeography of North America’s most destructive conifer defoliator, the spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*). *Ecol Evol* 10:914–927. <https://doi.org/10.1002/ece3.5950>

РУКОВОДСТВО ДЛЯ АВТОРОВ

Общая информация

В «Вестнике защиты растений» публикуются результаты оригинальных исследований в формате полнотекстовых статей и кратких сообщений, обзорные работы в виде полнотекстовых и мини-обзоров, дискуссионные заметки (комментарии к опубликованным статьям, ответы на комментарии) и хроника событий, имеющих отношение к защите растений (объявления о предстоящих и отчёты о прошедших мероприятиях, памятные даты, некрологи и т.п.).

Плата за обработку и публикацию статей не взимается.

Журнал публикует статьи на русском или английском языке. Редакция оставляет за собой право перевода на

английский язык рукописей, поданных на русском языке (с обязательным согласованием окончательного текста с авторами).

Размер рукописи определяется в зависимости от типа статьи (Приложение 1, Таблица 1). Краткое сообщение, как и другие типы статей, представляет собой законченную работу (а не предварительные данные незавершенного исследования). Текст должен быть отформатирован единообразно с учётом приведенных указаний, без использования множественных пробелов и знаков табуляции в качестве абзацных отступов и внутри абзацев.

Порядок подачи рукописей

Подача рукописей для рассмотрения Редакцией осуществляется онлайн через личный кабинет автора, ответственного за переписку. Доступ в Систему Электронного Редактирования с сопутствующей инструкцией открыт на официальном вебсайте Журнала по адресу: <http://plantprotect.ru>. Рукопись представляется в виде электронного документа (файла), совместимого с MS Office Word. Предпочтительный формат – DOC, также допускаются RTF и другие совместимые форматы, если их использование не приводит к искажению содержимого. Отдельно предоставляются следующие документы: анонимный текст рукописи (где удалены сведения об авторах и местах их работы из русской и английской версий титульной страницы); файлы с рисунками (см. далее); сведения об авторах (с указанием места работы, рабочего адреса, контактного

телефона и адресов электронной почты автора, отвечающего за переписку); сведения о потенциальных рецензентах (ФИО, место работы, e-mail), при наличии – сведения о нежелательных рецензентах (ФИО, место работы, причины, по которым обращение к данным специалистам нежелательно). Дальнейшая работа (рецензирование, сообщения о решениях редакции, передача авторских прав, научное и техническое редактирование, согласование макета редакцией и авторами и т.п.) ведется через личный кабинет в Системе Электронного Редактирования. Редакция оказывает помощь в решении всех вопросов, касающихся работы в данной системе, при обращении по электронной почте: vestnik@vizr.spb.ru; ytokarev@vizr.spb.ru.

Рукописи статей, оформленные с нарушением настоящих правил, могут быть отклонены.

Оформление титульной страницы

Рукопись начинается с титульной страницы. В конце рукописи размещается англоязычная версия резюме русскоязычной статьи либо русскоязычная версия англоязычной статьи.

Содержимое титульной страницы не требует специального форматирования, копирующего стиль оформления в печатной версии журнала. Достаточно привести всю необходимую информацию текстом, набранным в нижнем регистре, стандартным шрифтом, без абзацных отступов, с выравниванием по левому краю.

В первом абзаце приводится категория статьи по классификатору OECD+Web of Science (Приложение 1, Таблица 2), например: «4.01+MU».

Во втором абзаце указывается тип статьи (Приложение 1, Таблица 1).

В третьем абзаце размещается **название статьи в нижнем регистре (строчными буквами)**. Верхний регистр (=прописные буквы) используются только для начальных символов первого слова предложения и имен собственных, в аббревиатурах и т.п. Латинские названия таксонов приводятся полностью, без авторов, кроме случаев, когда отсутствие указания авторов может привести к путанице.

В четвертом абзаце даются инициалы и фамилии авторов через запятую.

В пятом абзаце отображаются наименование места работы (для научных и образовательных учреждений – без

указания официальных аббревиатур ведомственной принадлежности – ФГБНУ, ФГБОУ ВО и т.п., если иное не регламентировано иными обязательствами авторов рукописи), город (населенный пункт), страна (для русскоязычной версии - если город расположен за пределами России, для англоязычной версии – в любом случае). Если организаций несколько, каждая размещается на новой строке, для указания места работы авторов используются арабские цифры в формате надстрочных знаков. Если авторов более одного, после ФИО автора, ответственного за переписку, ставится знак «*».

В шестом абзаце указывается e-mail автора, ответственного за переписку

В седьмом абзаце располагается **Аннотация**, без заголовка и разбивки на абзацы, простым текстом, без цитирований, специальных символов и знаков форматирования. Задача аннотации – изложить основное содержание статьи в кратком виде, чтобы оно было понятно без обращения к основному тексту. Размер аннотации зависит от типа статьи (Приложение 1, Таблица 1). Числительные, если не являются первым словом в предложении, передаются цифрами. При использовании аббревиатур (кроме общепринятых: АПК, ВТО, ДНК, НДС, ПЦР, РНК и т.п.) необходима их расшифровка при первом упоминании. Латинские наименования таксонов приводятся полностью.

В восьмом абзаце приводится от 4 до 8 ключевых слов или словосочетаний, перечисленных через запятую, в единственном числе (за исключением терминов,

употребляемых только во множественном числе), без предлогов и союзов. **Ключевые слова должны отражать тематику статьи, но не повторять её название.**

Структура основного текста статьи

Структура полнотекстовой статьи включает следующие обязательные разделы: **Введение, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение.** Краткое сообщение имеет такую же структуру, но в один раздел объединяются **Результаты и обсуждение.** В тексте обзорных статей следует использовать названия разделов, отражающие их содержание, либо не выделять разделы. По согласованию с редакцией, для полнотекстовых статей допускаются отклонения от стандартной структуры в соответствии с логикой изложения материала (например, в случае научно-методических статей, не относящихся к категории обзоров).

Во **Введении** следует привести актуальную информацию по рассматриваемой тематике и обосновать цель (задачи) исследования, желательно сформулировать рабочую гипотезу, требующую проверки в рамках данной работы. В **Материалах и методах** - последовательно указать все этапы выполненного исследования, схемы экспериментов

и конкретные методики, изложенные достаточно подробно для возможности их независимого воспроизведения, со ссылками на все необходимые источники. В **Результатах** необходимо описать конкретные данные, полученные в ходе экспериментов, и адекватную статистическую обработку количественных показателей, а в **Обсуждении** – обобщить основную суть полученных результатов (при этом не дублируя результаты из предыдущего раздела!) и сравнить их с литературными данными. Следует избегать пространственных рассуждений, мало релевантных теме работы. Допускается дополнительный раздел **Заключение**, в котором можно кратко изложить основные выводы работы. Основной объем цитируемой литературы должен быть представлен современными научными публикациями в центральных отечественных и зарубежных журналах, имеющих мировое признание (индексированных в международных базах данных).

Свободный формат

Для первичного рассмотрения допускается свободный формат: рукопись может быть подготовлена в соответствии с основными требованиями к содержанию и структуре, но без соблюдения формата титульной страницы,

подписей к рисункам, заголовков таблиц, списка литературы и т.п. При подаче рукописи в свободном формате необходимо сообщить об этом в разделе «Комментарий для редактора».

Форматирование текста

Текст должен быть отформатирован единообразно с учётом приведенных указаний, без использования множественных пробелов и знаков табуляции в качестве абзацных отступов и внутри абзацев. Основной текст статьи выравнивается по ширине страницы, абзацный отступ 1 см. Заголовки разделов выравниваются по центру, без отступов, размещаются на отдельной строке и выделяются полужирным шрифтом.

Требования к форматированию текста следующие: шрифт Times New Roman для набора основного текста, таблиц и подписей к рисункам, Arial для рисунков, Symbol для символов греческого алфавита; размер шрифта (кегель) основного текста, заголовков, подписей к рисункам, названий таблиц, списка литературы – 12 пунктов, в таблицах

– 9 пунктов; межстрочный интервал «одинарный»; ориентация страницы «книжная»; все поля страницы – 2 см; стиль абзаца «Обычный»; стили для форматирования символов не используются; дробная часть числа отделяется точкой; знак процента «%» и градуса «°» отделяется от числового значения пробелом, например, «24 °C». Границы числовых диапазонов разделяются коротким тире без пробелов («34–51»). После сокращений единиц времени («ч», «мин», «сек») точки не ставятся (если только ими не заканчивается предложение).

Формулы строятся в стандартном редакторе формул Microsoft Word либо предоставляются в виде черно-белых растровых изображений с разрешением не менее 600 dpi.

Латинские названия таксонов

Таксономические наименования даются в соответствии с современной номенклатурой (при необходимости приводятся синонимы). Указание авторства таксонов видовой ранга обязательно для работ по таксономии, номенклатуре и региональному разнообразию биологических объектов и приводится согласно соответствующим кодексам ботанической и зоологической номенклатуры при первом упоминании объекта в основном тексте.

Название каждого вида приводится полностью при первом упоминании в аннотации и основном тексте, в таблицах и подписях к рисункам. При повторном упоминании родовой эпитет сокращается, в том числе при упоминании другого вида того же рода (*Alternaria solani*, *A. tenuissima*). Если родовой эпитет начинается с дифтонга

(*Aedes*, *Eurygaster*) или диграфа (*Chenopodium*, *Phaseolus*), для сокращения следует использовать эти сочетания (*Ae. aegypti*, *Eu. integriceps*, *Ch. alba*, *Ph. vulgaris*). При упоминании в рукописи разных таксонов с одинаково начинающимися родовыми и одинаковыми видовыми эпитетами (*Pseudomonas syringae*, *Pseudococcus syringae*) следует приводить родовой эпитет полностью либо сокращать до первой различающейся буквы включительно (*Pseudom. syringae*, *Pseudoc. syringae*). Видовые и родовые эпитеты выделяются курсивом (за исключением случаев, когда они входят в состав названия заболевания, например, *Septoria leaf spot*, и т.п.). При использовании тривиальных названий культурных растений (рожь, пшеница, овес, ячмень) использование латинских названий таксонов не обязательно.

Иллюстративные материалы

Таблицы размещаются в тексте статьи, непосредственно после абзаца с первой ссылкой на таблицу. Рисунки предоставляются в виде отдельных файлов, при этом в тексте размещается копия рисунка с подписью к нему после абзаца с первой ссылкой на рисунок (как указатель для размещения оригинального рисунка в финальном макете). Допустимая ширина рисунков 18.1 см. Растровые изображения (фотографии и т.п.), предоставляются в формате TIFF или JPEG (максимального качества), в черно-белом (Grayscale) исполнении, с разрешением не менее 300 точек

на дюйм (dpi). Диаграммы и графики выполняются без использования цветных элементов, стандартными средствами, совместимыми с MS Excel, и предоставляются в двух формах – как растровое изображение (см. выше) и как исходный файл формата XLS (доступный для редактирования). Рисунки и таблицы не должны дублировать содержание друг друга. Заголовки таблиц и рисунков русскоязычных статей приводятся на русском и английском языках.

Цитирование источников литературы

Ссылки на литературные источники приводятся в круглых скобках, фамилии авторов отделяются от года запятой. Для всех ссылок с указанием авторов (редакторов) приводятся фамилия автора и год, для двух авторов перечисляются обе фамилии (через запятую), для трёх и более авторов после фамилии первого автора ставится «и др.» и «et al.» для ссылок на кириллице и латинице, соответственно. Для публикаций и электронных ресурсов, не имеющих авторов (редакторов), приводится полное название (если оно состоит менее, чем из пяти слов), либо первые одно-четыре слова названия с многоточием. Возможно использование элементов ссылки (фамилии автора или названия источника) в качестве членов предложения с указанием в скобках года издания. Примеры цитирования библиографических ссылок в тексте: «Исследованиями Beznoussenko с соавт. (2007) установлено ...»; «согласно методике, предложенной Сухорученко, Ивановой (2013)»; «в соответствии с Index Fungorum (2018)»; «по сведениям, приведенным в «Списке пестицидов и агрохимикатов ...» (2018)»; «как показано ранее (Калько и др., 2001)»; «с помощью стандартных подходов, рекомендованных для данных объектов (Долженко, 2009)». Для нормативных документов указывается тип и номер документа: «ГОСТ

21507-2013; СНИП II-108-78; ТУ 9291-007-00479563-98». При цитировании нескольких работ их располагают в скобках в порядке возрастания года публикации, сначала ссылки на кириллице, затем на латинице, через точку с запятой. При совпадении автора и года издания у цитируемых работ им присваиваются последовательные буквенные индексы соответствующего алфавита (Павлюшин, 2017аb; Afanasenko et al., 1999b).

Допускаются библиографические ссылки на статьи в журналах и сборниках статей, книги, главы в книгах, авторефераты диссертаций и диссертации, электронные издания, патенты, нормативные документы и справочные материалы. При необходимости, допускается цитирование материалов крупных международных конференций и съездов (в случае обоснования их принципиальной важности для целей публикации, по согласованию с редакцией). В отдельных случаях возможны ссылки на авторские неопубликованные данные и на личные сообщения коллег («Лелявская В.Н., неопубликованные данные; Токарев Ю.С., личное сообщение»). Ссылки на материалы ограниченного доступа, для служебного пользования, не доступные онлайн научные отчёты и т.п. не допускаются.

Оформление раздела «Библиографический список (References)»

Данный раздел приводится после основного текста. Все описания в нем должны быть оформлены единообразно, в алфавитном порядке, сначала на кириллице, затем на латинице (Приложение 2). После фамилии автора указываются инициалы без точек и пробелов, при перечислении нескольких авторов используется запятая. Если авторов более пяти, ФИО авторов, начиная с пятого, заменяются на обозначение «и др.» и «et al» для записей на кириллице и латинице, соответственно; точка не ставится. После ФИО авторов указывается год издания в круглых скобках, название публикации, точка, *название издания, выделенное курсивом*. Названия русскоязычных изданий даются без сокращений, названия журналов на латинице (английский, немецкий, французский, испанский и т.п.) сокращаются по правилам National Library of Medicine (<https://www.nlm.nih.gov/tsd/cataloging/constructtitleabbrev.html>); точки не ставятся. Далее указываются численные указатели без пробелов: номер тома, номер выпуска в круглых скобках (при наличии), двоеточие, номер первой страницы, короткое «тире» (не путать с дефисом!), последняя страница. В случае, если взамен системы том-выпуск выпуска журнала имеют двойную нумерацию, в скобках указывается сквозной номер, например: «4(98)». При наличии цифрового

идентификатора объекта (DOI) его необходимо указывать в конце библиографической записи в формате «[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4\(98\)-5-12](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-4(98)-5-12)», в этом случае после номера последней страницы ставится точка; если же после номера последней страницы идет указание оригинального языка публикации в круглых скобках: «(In Chinese)», точки не ставятся, правая скобка отделяется от ссылки DOI пробелом.

При цитировании книги указывается автор, год, название, город и место издания (разделяются двоеточием), количество страниц («28 с.»). Названия городов «Москва», «Ленинград», «Санкт-Петербург» сокращаются до «М.», «Л.» и «СПб.».

При цитировании главы книги после ФИО авторов, года и названия главы используется указатель «В кн.:» (для ссылок на кириллице) или «In:» (для ссылок на латинице), затем приводятся ФИО редакторов с указателем «(ред)» (для ссылок на кириллице) или «(ed)»/«(eds)» (для ссылок на латинице для единственного и множественного числа, соответственно), название книги, место издания, издательство, диапазон страниц. Там, где нет скобок, элементы ссылки отделяются друг от друга точкой.

По аналогичным принципам формируются иные виды ссылок (см. приведённые ниже примеры). При цитировании диссертационных работ используется сокращение «дисс.» или «автореф. дисс.», многоточие и соответствующая ученая степень (к.б.н., к.с.-х.н. и т.п.). Данный раздел ссылки выделяется курсивом, затем ставится точка и указывается город, где расположена организация, в которой

выполнена работа, точка, количество страниц (см. выше). Для ссылок на латинице дается обозначение «PhD Thesis».

При цитировании онлайн-ресурсов перечисляются через точку ФИО автора, название страницы и/или ресурса, URL в формате <http://www.domain2.domain1/site>, дата обращения в круглых скобках (без точек). При отсутствии ФИО автора ссылка начинается с названия страницы/ресурса.

Оформление раздела «Translation of Russian References»

После основного списка литературы приводится раздел **Translation of Russian References** (Приложение 3). В нём должны быть продублированы все цитированные работы, опубликованные на кириллице, переведенные на английский и транслитерированные по правилам транслитерации Госдепартамента США (<http://transliteration.ru/gosdep/>). Исключения в порядке транслитерации допускаются для авторов, чьи фамилии имеют устойчивую форму в англоязычных публикациях, и для периодических изданий, чьи транслитерированные названия зафиксированы в библиографической базе данных SCOPUS (например, «Sel'skokhozyaistvennaya biologiya»). Транслитерированные названия русскоязычных периодических изданий приводятся без сокращений, за исключением названий, зафиксированных в базе данных PUBMED (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>): «Prikl Biokhim Mikrobiol», «Mol Biol (Mosk)» и т.п. В ссылках на журнальные статьи название публикации переводится на английский язык (при наличии, используется опубликованный перевод названия) и выделяется квадратными скобками. Для книг и сборников под общей редакцией указывается перевод названия

на английский в квадратных скобках. Для материалов конференций приводится перевод названия работы в квадратных скобках, затем – название сборника в сокращенном англоязычном варианте. Место издания приводится в полном виде в англоязычной, а не транслитерированной форме («St. Petersburg», а не «Sankt-Peterburg» и «SPb»). Название издательства транслитерируется. В конце ссылки в скобках указывается язык публикации, например: «(In Russian)», при наличии – ссылка на DOI (по образцу, приведённому в Приложении 2). В случае, если цитируемая в русскоязычной версии статья имеет переводную версию, предпочтительно приводить не перевод библиографической записи русскоязычной работы, а **ссылку на переводную версию статьи с соответствующими выходными данными (включая DOI, актуальный для данной версии)**.

В конце рукописи, после библиографического списка, дублируется информация титульной страницы до Введения, то есть первых семи абзацев (см. выше), **на английском языке**.

Приложение 1

Таблица 1. Рекомендуемый объем рукописи в зависимости от типа статьи

Тип статьи	Максимальное количество страниц текста*	Максимальное количество единиц иллюстративного материала (таблиц и рисунков)**	Объем аннотации (количество слов)
Полнотекстовый обзор	40	20	150–250
Мини-обзор	20	10	100–150
Полнотекстовая статья	20	10	150–250
Краткое сообщение	6	2	100–150
Дискуссионная заметка	4	1	нет
Хроника	10	2	нет

*страницы документа MS WORD, отформатированные согласно настоящим Правилам

**при условии, что 1 единица иллюстративного материала занимает 0.5 страницы.

Таблица 2. Основные коды классификатора OECD+Web of Science в соответствии со специальностями ВАК

Специальность ВАК	Классификатор OECD+WoS
1.5.14 Энтомология	1.06+IY (Entomology)
1.5.18 Микология	1.06+RQ (Mycology)
4.1.1 Общее земледелие. Растениеводство	4.01+AM (Agronomy)
4.1.2 Селекция, семеноводство и биотехнология растений	4.01+AM (Agronomy)
4.1.3 Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений*	4.01+AM (Agronomy) 4.01+XE (Soil Science)
4.1.4 Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры*	4.01+AM (Agronomy) 4.01+MU (Horticulture)

*в связи с объединением ряда специальностей ВАК РФ (Приказ Минобрнауки России № 118 от 24.02.2021), предлагается выбор кода классификатора в зависимости от тематики рукописи

Примеры оформления раздела **Библиографический список (References)**Статьи из журналов и периодических сборников:

Калько ГВ, Воробьев НИ, Лагутина ТМ, Новикова ИИ (2001) Ингибирование микробами-антагонистами фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* в торфоугрунте. *Микология и фитопатология* 35(3):66–75

Статьи с более чем четырьмя авторами:

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

Статьи из журналов со сквозной нумерацией

Митина ГВ, Козлова ЕГ, Пазюк ИМ (2018) Влияние биопрепарата вертициллин М на основе экстракта энтомопатогенного гриба *Lecanicillium muscarium* и его инсектицидных метаболитов на энтомофагов защищенного грунта. *Вестник защиты растений* 2(96):28–35. [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2\(96\)-28-35](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2(96)-28-35)

Статьи из неперидического сборника:

Сухорученко ГИ, Иванова ГП (2013) Обыкновенный паутинный клещ. Мониторинг резистентности к пестицидам в популяциях вредных членистоногих. Методические рекомендации. СПб.: ВИЗР. 14–16

Книги:

Знаменский ВС, Лямцев ЯИ, Новикова ЕН (1982) Рекомендации по надзору за непарным шелкопрядом. М.: ВНИИЛМ. 28 с.

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

Главы в книгах:

Бахвалов СА (2000) Вирозы насекомых. В кн.: Глупов ВВ (ред) Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты. М.: Круглый год. 20–75

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

Методические пособия и прочие издания под общей редакцией:

Долженко ВИ, ред (2009) Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве. СПб.: ВИЗР. 322 с.

Материалы и тезисы конференций:

Степанова НГ (2013) Система защиты семенного картофеля от болезней и вредителей в Северо-Западном регионе. Материалы Третьего Всероссийского съезда по защите растений «Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем». 1:183–185

Lopez MM (1978) Characteristics of French isolates of *Agrobacterium*. Proc. 4th Internat. Conf. Plant Pathogenic Bacteria. 233-237

Townsend R, Marshall S, Leclerque A, Kleespies R et al (2010) Appearance of pathogens within outbreak populations of native insect populations in New Zealand. Abstr. 43th Ann Meeting Soc. Invertebr. Pathol. 58

Диссертационные работы:

Сибикеев СН (2002) Чужеродные гены в селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине. Дисс. ... д.б.н. Саратов. 200 с.

Долженко ТВ (2017) Биологизация и экологическая оптимизация ассортимента средств защиты сельскохозяйственных культур от вредителей: Автореф. дисс. ... д.б.н. СПб. 43 с.

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

Патенты:

Гасич ЕЛ, Хлопунова ЛБ, Берестецкий АО, Сокорнова СВ (2010) Штамм гриба *Phoma complanata* (Tode) Desm. 1.40 (ВИЗР), обладающий микогербицидной активностью против борщевика Сосновского. Патент на изобретение RUS 2439141

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

Нормативные документы без указания авторства:

ГОСТ 21507-2013. Защита растений. Термины и определения (2014) М.: Стандартиформ

Список пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории Российской Федерации (2018) Приложение к журналу «Защита и карантин растений» 5:720–725

Электронные документы:

Галлямова ОВ. Бензимидазолы. Пестициды.ru. http://www.pesticidy.ru/group_substances/benzimidazoly (01.03.2018)

ФГБУ «Госсорткомиссия». Сорты растений, включенные в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. <https://reestr.gossort.com/reestr/l/27> (01.03.2019)

Index Fungorum (2018) <http://www.indexfungorum.org/Names/Names> (14.05.2020)

Примеры оформления раздела Translation of Russian References

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

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

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

Dedkov VP, Volodina AA, Gubareva IYu (2006) [Review of fungi of the Kaliningrad region]. In: Dedkov VP, Gubareva IYu (eds) [Biodiversity of the Kaliningrad region. Part 1. Fungi, lichens, mosses, horsetails and ferns in Kaliningrad region]. Kaliningrad: Baltiyskiy federalnyy universitet imeni Immanuila Kanta. 6–78 (In Russian)

Dolzhenko VI, ed (2009) [Guides for registration trials of insecticides, acaricides, molluscicides and rodenticides in agriculture]. St. Petersburg: VIZR. 322 p. (In Russian)

Mikhailova LA (1996) [Variability patterns of the brown rust agent and genetic control of wheat resistance to the disease]. *Abstr. Dr. Biol. Thesis*. St. Petersburg. 63 p. (In Russian)

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

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

Stepanova ND (2013) [Seed potato protection system against diseases and pests in the North-West region]. Phytosanitary optimization of agroecosystems. Proc. 3rd All-Russ. Congr. Plant Protection. 1:183–185 (In Russian)

КОНТРОЛЬНЫЙ СПИСОК ПОДГОТОВКИ МАТЕРИАЛА К ОТПРАВКЕ

В качестве одного из этапов процесса отправки материала, предназначенного для публикации в журнале, авторы должны проверить соответствие его всем следующим пунктам. Материалы могут быть возвращены авторам, если они не отвечают 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 из разных организаций, 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), а 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)
 - Для обоснования актуальности и новизны исследования, сравнения полученных данных с мировым опытом процитировано достаточное количество современных публикаций в научных изданиях мирового уровня
 - Использованные методики и схемы экспериментов изложены достаточно подробно, чтобы их можно было воспроизвести в независимом исследовании
 - Обработка количественных данных проведена с помощью адекватных подходов математической статистики, для сравниваемых значений определена статистическая достоверность различий
 - Описание результатов адекватно использованным методам исследований, а выводы соответствуют полученным результатам
 - Таблицы и рисунки информативны и соответствуют содержанию рукописи, заголовки, подписи, указатели адекватны
 - Рукопись оформлена в строгом соответствии с требованиями к структуре и формату, либо выбрана опция “Свободный формат”, что указано в разделе “Комментарии для редактора”

AUTHOR GUIDELINES

General Information

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

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

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

Since 2020, manuscript submission is performed online via personal accounts of corresponding authors. Access to the Electronic Submission System is open at the official website of the Journal: <http://plantprotect.ru>. The manuscript is submitted as an electronic document (file) in the format compatible with MS Office (Word). Preferable formats are DOC or Rich Text Format (RTF); however, we also accept other formats if their content is not distorted. Other documents submitted as separate files are anonymous manuscript version (devoid of information on authors and their affiliations), files with figures

(see below), information about authors (including affiliations with physical addresses, e-mail addresses of all authors, and a contact phone number of the corresponding author) and potential reviewers (names, affiliations, and e-mail addresses). Further communications (review, notifications on the Editorial Board decisions, authorship transfer, scientific and technical edits, layout adjustments by editors and authors, etc.) is conducted through the Electronic Submission System.

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

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

Manuscripts violating these guides will not be considered. The authors can provide a preliminary version of their paper without special formatting by requesting the option «Your paper – your way» in the “Comments for the Editor” field. In this case, the authors will be allowed to format the title page and the bibliography after the paper is accepted for publication.

Authors are not charged for article processing and publication. Submitted manuscripts are not returned.

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

Instructions for manuscript organization

Manuscript size depends on article type (Table 1). Short communication, as well as other types or articles, must be a

complete work rather than preliminary data resulting from an incomplete study.

Table 1. Recommended size limits for different article types

Article type	Maximum number of pages of text*	Maximum number of illustrative units (tables & figures)**	Abstract volume (word count)
Full-text review	40	20	150-250
Mini-review	20	10	100-150
Full-text article	20	10	150-250
Short communication	6	2	100-150
Discussion note	4	1	No
Chronicle	10	2	No

*pages of an RTF document formatted according to the Instructions

**One unit occupies 0.5 page

First paragraph includes **title of the paper written in the sentence case**. Upper case is used only to in the beging of sentences, in proper nouns, and in acronyms. Latin names are given without authors unless this is needed to avoid confusion.

Second paragraph includes initials and surnames of authors separated by commas.

Third paragraph includes authors’ affiliation, city and country. Several affiliations are indicated by superscript Arabic numbers.

Fourth paragraph includes plain text **Abstract** without title, paragraphs, citations, special symbols, and formatting. Its purpose is to deliver the main content of the article in a short form that can be understood without reading the main text. Abstract size depends on the article type (Table 1). Numerals are given as numbers (if not the first word of a sentence). Abbreviations need to be spelled out upon the first mention, with the exception of those widely accepted (e.g., WTO, DNA, PCR, RNA, FAO) Latin names of taxa are given in full.

Fifth paragraph contains 4 to 8 keywords, separated by commas, without prepositions and conjunctions. Keywords should reflect the article's content but not repeat its title.

Main text follows, with titles of section typed in bold font on separate lines. Full-text article must include the following sections: **Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion**. Short communication has the same structure, but **Results and Discussion** are merged into a single section. Reviews contain sections on authors' discretion. Upon agreement with the Editorial Office, full-text article structure can be modified in accordance with the logical arrangement of the presented material.

Text formatting is as following: the font is Times New Roman for the main text, tables, and figure legends, Arial for figures, and Symbol for Greek symbols. Font size is 12 in main text, 9 in tables, figure legends, and references. Line spacing is single, page orientation is vertical (portrait), all page margins are 2 cm, no styles for symbol formatting are applied. Decimal part is separated by a dot, "%" symbol is separated by a space from the preceding number.

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

Latin taxa names are given according to the modern nomenclature. Each species name is given in full at first mentioning in the main text with author names; subsequently, the genus name is abbreviated throughout the text.

Illustrative materials are provided within the text after paragraphs containing their first mentioning. Figure and table sizes are 8.7 or 18.1 cm. Diagrams and graphs are built without color elements using standard means compatible with MS Office Word, preferably in Excel. In the latter case, XLS files must be submitted together with the manuscript. Raster images are supplied as separate TIFF or maximum quality JPEG files with resolution of 300 dpi or higher. Figures and tables should not present the same data.

References are given in round parenthesis: «The research has shown that (Whitlock, Johnston, 1990)»; «According to Weiser (1972),». References to conference abstracts and proceedings should be omitted, with the exception of essential pieces presented at prominent international events.

Examples of original references in English

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

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

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

Lopez MM (1978) Characteristics of French isolates of *Agrobacterium*. Proc. 4th Internat. Conf. Plant Pathogenic Bacteria. 233–237

Townsend R, Marshall S, Leclerque A, Kleespies R et al (2010) Appearance of pathogens within outbreak populations of native insect populations in New Zealand. Abstr. 43th Ann Meeting Soc. Invertebr. Pathol. 58

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

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

Index Fungorum (2018) <http://www.indexfungorum.org/Names/Names> (14.05.2020)

Examples of Translated Russian References

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

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

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

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

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

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

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

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

Stepanova ND (2013) [Seed potato protection system against diseases and pests in the North-West region]. *Fitosanitarnaya optimizatsiya agroekosistem. Materialy Tret'yego Vserossiyskogo Syezda po zashchite rasteniy* [Phytopsanitary optimization of agroecosystems. Proc. 3rd All-Russ. Congr. Plant Protection]. 1:183–185 (In Russian)

SUBMISSION PREPARATION CHECKLIST

As part of the submission process, authors are required to check their submission's compliance with all of the following items. Submissions may be returned to the authors who do not adhere to these guidelines.

- The submission has not been previously published, nor is it currently being considered for publication by another journal
- 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) is clearly delineated and accompanied by references to its original source
- 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-mail addresses of all authors, as well as contact phone number of the corresponding author); (d) list of 3-5 potential reviewers with no conflict of interests (such as having the same affiliation as the authors of the manuscript), including full names, affiliations, and e-mail addresses
- 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 sizes correspond to the recommendations (Appendix 1, Table 2)
- List of references is sufficient to substantiate research goal and scientific novelty and to compare obtained data with previous research conducted around the world
- Methods, approaches, and experimental designs are detailed, clear, and reproducible
- Results section adequately describe the information obtained following the procedures presented in Methods section, while Discussion section corresponds to the Results section
- Tables and Figures are informative and correspond to the content; their titles, legends, and footnotes are adequate for their interpretation
- The manuscript is either properly structured and formatted or the option "your paper - your way" (YPYW, formatting according to the Manuscript Organization Instructions will be performed after the review) is chosen and indicated in the "Comments for the Editor" field
- Statistical analysis is adequate for interpreting quantitative data

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.

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 с условиями лицензионного соглашения (см. разделы), 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) потребуется после принятия рукописи к печати и утверждения на редколлегии, поскольку в процессе редакционной работы могут измениться название, аннотация, ключевые слова и т.п.

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.

Как и в основном тексте рукописи, в метаданных название рукописи необходимо приводить **в нижнем регистре (строчными буквами)**. Верхний регистр (=прописные буквы) используются только для начальных символов первого слова предложения и имен собственных, в аббревиатурах и т.п.).

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

ФИО авторов должны быть перечислены полностью в том же порядке, что и в рукописи; допускается заполнение полей «имя» и «отчество» первыми буквами; поле «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.

Авторские права

В случае принятия рукописи к печати, между авторами и издателем заключается лицензионное соглашение с целью соблюдения условий Creative Commons Attribution 4.0 International License. Подписывая соглашение, авторы гарантируют, что ранее рукопись или ее части не публиковались, в ней отсутствует плагиат и иные формы неправомерного заимствования данных, а произведенные

заимствования текста, таблиц, схем и иллюстраций оформлены в надлежащей форме. Автор(ы) несут ответственность за точность приведенных фактов, цитат, статистических данных и иных сведений. Форма договора доступна для скачивания на сайте журнала в форматах DOC и PDF.

Авторы сохраняют за собой авторские права, передавая журналу «Вестник защиты растений» право на первичную публикацию при одновременном лицензировании статьи на условиях лицензии CC BY 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), позволяющей распространение работы сторонними лицами при указании авторства работы и её первичной публикации в этом журнале.

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>

To use 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. The Journal website is presented in English and in Russian, with the English version set by default. To switch the language, the language selection icons (flags) 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 via email may also be indicated.

Personal account displays an option to view one’s editable profile (the link appears when the cursor is hovered over account name in the upper right corner), submitted articles, and an active “submit article” button.

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

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

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

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.

Similarly to the main document, the manuscript title in the metadata should be given in sentence case (upper case should be used only to begin sentences, in proper nouns, and in acronyms). 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 authors should be listed in the same order as in the manuscript; their initials are filled in automatically. Affiliation should be indicated in strict accordance with the printed version of the article. Current primary e-mail address of the corresponding author is mandatory. For other authors, any type of e-mail can be used, and if there is no e-mail for an author, the corresponding author’s e-mail may be used instead because this field is mandatory.

Handling of Non-Original Data

Correct presentation of non-original material in manuscripts submitted to the journal “Plant Protection News” requires 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, the text must be written anew,

which doesn’t mean simple rearrangement of sentence parts, replacing a few words with synonyms, etc. Appropriate references to original sources must be provided.

2. Whenever cited, verbatim phrases must be enclosed with quotation marks and their sources be clearly referenced.

3. Verbatim reproduction of larger fragments (paragraphs) of a previously published text, requires its

separation from the original manuscript text with a clear indication of the quotation boundaries and the corresponding reference. The need for such a 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 to justify goals and objectives, to describe relevance and novelty, provide comparative analysis and discussion of new research results, etc. However, they cannot serve as the basis

for a new submission. Exceptions are allowed for successfully defended dissertations and for materials presented during scientific meetings.

5. Incorrect borrowing, presence of significant parts 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 for rejection of the manuscript by the editors.

Copyright policy

Authors retain copyright and grant the journal right of first publication, with the work simultaneously licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License that

allows others to share the work with an acknowledgement of the work's authorship and initial publication in this journal.

Please send all inquiries by e-mail to vestnik@vizr.spb.ru

РЕЦЕНЗИРОВАНИЕ

Рецензирование статей в журнале «Вестник защиты растений» проводится в режиме двойного (обоюдного) слепого рецензирования, когда рецензенту не известны личности авторов, а авторам – личности рецензентов.

При поступлении рукописи через систему онлайн-редактирования, редакция проводит её первичную оценку и назначает ответственного редактора из числа членов редколлегии, специалиста в соответствующей области. Ответственный редактор принимает решение – принять рукопись или отправить на рецензирование. В последнем случае, потенциальным рецензентам, экспертам в соответствующей области (областях) знаний, из системы онлайн-редактирования направляется запрос на проведение экспертизы, содержащий название и аннотацию статьи, со ссылкой на доступ в личный кабинет. В случае принятия приглашения на проведение экспертизы, рецензенту открывается доступ к анонимной версии рукописи и к анкете с инструкцией. Стандартный срок проведения экспертизы составляет 15 дней и может быть изменён по согласованию с редакцией.

В рецензии должны быть отражены следующие вопросы:

КАЧЕСТВО ИССЛЕДОВАНИЯ

Рассматриваемая проблема актуальна и соответствует тематике журнала

Материал характеризуется научной новизной

Использованы современные методы и подходы, соответствующие задачам исследования

Выводы не вызывают сомнений

КАЧЕСТВО ИЗЛОЖЕНИЯ

Название рукописи соответствует содержанию, постановка цели убедительна

Аннотация отражает содержание статьи

Методы описаны подробно и ясно

Результаты изложены корректно, обсуждение адекватно результатам

ИЛЛЮСТРАТИВНЫЙ МАТЕРИАЛ И БИБЛИОГРАФИЯ

Таблицы и рисунки информативны и соответствуют содержанию рукописи (при наличии)

Заголовки, подписи и указатели адекватны (при наличии)

Прочитано достаточное количество современных ссылок на научные работы мирового уровня

Ссылки на литературу в тексте соответствуют библиографическому списку

ФОРМАТ РУКОПИСИ (неприменимо для работ свободного формата)

Объем и структура рукописи соответствуют типу статьи

Текст не содержит грубых стилистических и грамматических ошибок

Формат библиографических ссылок соблюден

Рецензент проводит оценку рукописи статьи по указанным критериям, отметив соответствующие пункты формы, представляет комментарии для автора (обязательно) и редактора (при необходимости) и выбирает рекомендацию:

- **Принять материал:** содержание рукописи не требует доработки и её можно направить на техническое редактирование и макетирование.

- **Требуется доработка:** материалу требуется небольшие изменения, которые могут быть просмотрены и приняты редактором.

- **Отправить на рецензию повторно:** материалу требуются значительные изменения и второй раунд рецензирования.

- **Отправить в другое место:** скорее всего этот материал не очень подходит для этого журнала.

- **Отклонить статью:** слабые стороны рукописи не выдерживают критики и не позволяют рассматривать материал для публикации.

- **Смотри комментарии:** если ни одна из вышеперечисленных рекомендаций не подходит, вы можете оставить свой комментарий для редактора, описав свое решение.

В случае, если рецензент считает необходимым внести в рукопись изменения или отказать в принятии рукописи

к публикации, редакция просит дать чёткие и достаточно подробные комментарии, которые позволят авторам сделать все необходимые правки.

При необходимости повторной экспертизы рукопись будет направлена рецензентам после внесения изменений авторами и редакторской проверки вместе с сопроводительным письмом от авторов с указанием сделанных исправлений (ответами на комментарии), предложенных всеми рецензентами.

Предложения рецензента по коррекции текста можно внести непосредственно в файл рукописи и загрузить эту версию (отметив изменения с помощью примечаний, отслеживания изменений или цветового выделения текста).

Для сохранения анонимности рецензирования редакция просит рецензентов не включать в рецензию и редактируемую рукопись информацию, раскрывающую личность рецензента. Эти данные доступны редактору в его личном кабинете.

При необходимости, редакция имеет право запросить у авторов первичные данные и иные дополнительные материалы, связанные с рассматриваемой рукописью, для проверки правильности расчётов, адекватности сделанных выводов и т.п., на любом этапе рецензирования и редакторской обработки рукописи.

На основании полученных рецензий, редактор принимает решение о том, чтобы принять статью к печати,

отказать или вернуть на доработку. В последнем случае, автору, ответственному за переписку (подачу статьи), следует заново подать исправленную рукопись с указанием каждого исправления в соответствии с замечаниями рецензентов, а также с объяснением каждого случая, когда предложенное исправление не было сделано. Ответы на замечания каждого рецензента следует давать отдельно, при повторении замечаний разных рецензентов можно скопировать ответ или сослаться на ответ, данный ранее (см. образец ниже). При несогласии редактора с содержанием полученной рецензии (или при наличии убедительных возражений со стороны автора), рукопись может быть направлена на дополнительную экспертизу другому рецензенту. При наличии замечаний экспертов (редактора и/или рецензентов) в печать принимаются только доработанные и отредактированные рукописи.

Пример оформления ответов на замечания рецензента

Замечания рецензента А

замечание № 1

ответ: согласны, исправлено

замечание № 2

ответ: не согласны по следующим причинам

....

Замечания рецензента Б

замечание № 1

REVIEWING PROCESS

The reviewing process is double-blind to ensure that both reviewers' and the authors' personalities remain undisclosed.

Upon receiving a submitted manuscript through the online editing system, the Editorial Office makes its primary evaluation and assigns the Editor-in-charge to make a decision either to decline or admit it to review. In the latter case, a review request is sent to potential reviewers who are experts in the respective field(s). The request included manuscript title and abstract, login instructions and a link to the manuscript reviewing page in the electronic submission system. Standard timeframe for reviewing is 15 days. The reviewing process is double-blind assuring that both reviewers' and authors' personalities remain undisclosed.

The review should answer the following questions:

RESEARCH QUALITY

The problem is actual and corresponds to the Journal's scope

The material is of scientific novelty

Modern methods and approaches are used corresponding to the research goals

The conclusions cast no doubts

QUALITY OF PRESENTATION

Title corresponds to the content, chosen goal is convincing

Abstract reflects the article content

Methods are detailed and clear

Results are correct, Discussion is adequate

ILLUSTRATIVE MATERIAL AND BIBLIOGRAPHY

Tables and Figures are informative and correspond to the content (if present)

Titles, legends and indications are adequate (if present)
 The body of modern references of global scale is sufficient
 References in the text correspond to the Referece list
 MANUSCRIPT ORGANIZATION, not applicable for free format submissions
 Manuscript size and structure match the article type
 Text is devoid of gross stylistic and grammatical errors
 Reference style is respected

The reviewer evaluates the manuscript using the above criteria by ticking the corresponding positions of the reviewing form and, provides comments for the author (mandatory) and the editor (if needed) and submit a recommendation:

- **Accept Submission** as is and forward to technical processing.

- **Revisions Needed** which may be handled by the Editors.

- **Resubmit for Review** after remarkable improvement according to the Reviewer's comments.

- **Resubmit Elsewhere** as the paper doesn't suit the Journal.

- **Decline Submission** as it is not acceptable for publication anywhere.

- **See Comments** – if none of the options above are suitable, specific comments are welcome.

If the reviewer considers it necessary to make changes to the manuscript or refuse to accept the manuscript for publication, the editors ask for clear and sufficiently detailed

comments that will allow the authors to make all the necessary edits or consider criticism for their further work.

If a re-examination is necessary, the manuscript will be sent to the reviewers after changes made by the authors and editorial check, alongside with the response from the authors indicating the corrections made (responses to comments), as proposed by all reviewers.

Reviewer's suggestions for correcting text can be entered directly into the manuscript file and downloaded (flagging changes using annotations, tracking changes, or highlighting text).

To preserve the anonymity of the review, the Editorial Office asks the reviewers not to include in the review and edited manuscript information that discloses the identity of the reviewer. These data are available to the editor in his personal account.

The Editorial Office retains the right to request raw data and other additional materials concerning the manuscript under consideration. This can be done at any stage of reviewing and editorial processing to check if the calculations are valid, the conclusions are adequate, etc.

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

Response to reviewers' comments form

Reviewer A comments

Comment # 1

Response: we agree, corrected

Comment # 2

Response: we do not agree due to the following reasons

....

Reviewer B comments

Comment # 1

Response: see response to the reviewer A comment # 2

ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ

Данное руководство представляет собой набор этических правил, соблюдаемых редакцией и редакционной коллегией журнала «Вестник защиты растений» на всех этапах работы в отношении материалов, предлагаемых для публикации, а также в вопросах имиджевой политики издания и издателя. При внесении изменений в существующие правила проводится информирование аудитории через вебсайт журнала.

Основная цель редакции и редакционной коллегии заключается в распространении научной информации в рамках миссии журнала с учетом необходимости удовлетворения интересов читателей и авторов, соблюдения их законных интересов и права на получение достоверных сведений и защиту интеллектуальной собственности. Редакторы отвечают за научное качество публикуемых исследований, соответствующую обработку поступающего материала, благонадежную информацию о всех аспектах работы журнала, независимую от коммерческих интересов и прочих неэтичных воздействий.

Рукописи допускаются, рецензируются и публикуются в открытом порядке, насколько это совместимо с анонимным порядком рецензирования. От редакторов и авторов ожидается соблюдение установленного порядка подачи и редакционной обработки рукописей, направленного на прозрачность, эффективность и честность. В случае недостаточной научной ценности рукописи, наличия конфликта интересов и несоблюдения этических норм, отзыв/отклонение является обязанностью авторов/редакторов. Решение проблем осуществляется путем переписки между редактором и автором.

Подавая рукопись, авторы подтверждают, что представляемые материалы получены авторами, авторство всех участников работы должным образом отражено, работа не опубликована и не подана на рассмотрение где-либо ещё.

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

Допуская рукопись к редакционной обработке, редактор подтверждает, что она станет предметом рецензирования и что рукописи, не подвергавшиеся рецензированию публиковаться не будут.

Ответственный редактор и рецензенты выбирают с целью получения качественной экспертной оценки научного материала. Редакционная коллегия назначает рецензентов, не преследуя личных интересов. В случае

конфликта интересов эксперт обязан уведомить редакционную коллегию и отказаться от рецензирования.

Состав членов редакционной коллегии регулярно обновляется и расширяется за счет выбора новых членов на основе анализа библиографии и научных достижений, а также предложений действующих членов. Члены редколлегии несут ответственность за своевременное обновление своих наукометрических записей, редакция также осуществляет контроль за полнотой и достоверностью информации.

Редакция предоставляет рецензентам всю необходимую информацию об их правах и обязанностях, а также о порядке и требованиях к рецензированию, и оставляет за собой право прекратить сотрудничество с рецензентами, которые не выполнили свои задачи должным образом или допустили нарушение установленных сроков.

Редакционная коллегия следит за соблюдением защиты интеллектуальной собственности и требует, чтобы авторы и рецензенты проверяли рукописи на предмет нарушения этических принципов. При необходимости редакционная коллегия оказывает поддержку авторам, чьи права собственности были нарушены. Рецензенты также должны проверять рукописи на соответствие международным принципам этики научного сообщества.

Для соблюдения этических стандартов, проводится редакторская проверка на корректность заимствований с помощью системы “Антиплагиат.Эксперт” (<https://antiplagiatexpert.ru/>).

Редакция действует твердо при выявлении фактов нарушения этических принципов в отношении как неопубликованных, так и опубликованных материалов, не допускает неправомерного поведения при проведении исследований, проводит тщательное расследование инцидентов, добивается отклонения или исправления рассматриваемого материала, готова к публикации соответствующих объяснений и извинений в соответствии с принципами [Комитета публикации этики](#).

Научные обсуждения и обмен мнениями на страницах журнала приветствуется редакционной коллегией, включая комментарии к опубликованным статьям и ответы на них.

ETHICS

These guidelines describe a set of ethical rules to be followed by the Editorial Office and the Editorial Board when considering materials for publication and communicating on behalf of the Journal and the Publisher. In case of any changes made to the existing rules, the audience will be informed via the journal website.

The main goal of the Editorial Office and the Editorial Board is dissemination of scientific knowledge within the framework of scientific mission of the Journal. The editorial office commits itself to meeting the needs of readers and authors and to protect their legitimate interests and rights to receive reliable data and to preserve intellectual property. The Editors are responsible for ensuring scientific quality of published research, proper treatment of submitted papers, and providing reliable information on all aspects of the Journal's functioning, independent from commercial interests and other conflicts of interest.

The manuscripts are admitted, reviewed and published in a transparent manner, as far as it does not compromise double-blind reviewing process. The editors and the authors are expected to respect the established procedures for manuscript submission and processing, aiming at transparency, effectiveness, and honesty. In case of insufficient scientific value, any violation of journal policies, incompatibility with ethical standards, conflict of interests, and not following formatting guidelines, both editors and authors have the right to decline/withdraw a manuscript. Any arising problems must be resolved via correspondence between an editor and an author.

By submitting a manuscript, the authors confirm that the materials presented are obtained by the authors, the authorship of all contributors is properly acknowledged, and the work has not been published or submitted for publication elsewhere.

Decision of the Editorial Board on whether to publish an article is based solely on the quality of submitted scientific material. Journal policy rules out a possibility of commercial influence on results of an expert evaluation and the subsequent decision on the article's acceptance.

By admitting a manuscript for processing, the editors confirm that it will be subjected to a peer review and that those manuscripts which did not pass such a review will not be published.

The Editorial Office invites experts in the appropriate fields of research for reviewing submitted manuscripts. Reviewers are selected to provide a high quality expert evaluation of the scientific material with no personal interest in publishing or declining a certain article. In case of the conflict of interests, an expert is expected to notify the Editorial Office and abstain from participating in the review process.

Membership in the Editorial Board is regularly renewed and expanded by choosing new members on the basis of their publication records and scientific achievements, as well as on suggestions of its current members; their records are regularly checked and updated to ensure current information. The Editorial Office provides reviewers with all the necessary information on their rights and duties, as well as on the procedure of reviewing and requirements for a review. The office reserves the right to cease collaboration with the reviewers not performing their tasks properly or not meeting deadlines.

The Editorial Office is responsible for protecting personal information of authors and reviewers, as well as for non-disclosure of other information received during the publication process.

The Editorial Office respects protection of intellectual property and demands that both authors and reviewers check for any violations of the ethical code by the authors. When necessary, the Editorial Office renders assistance to the authors whose property rights were infringed upon. Reviewers also must check whether the data described in the submitted articles were obtained as a result of research conducted in accordance with the ethical principles generally accepted by international scientific community.

In order to comply with ethical standards, editorial check for (self-)plagiarism using “Antiplagiat.Expert” system (<https://antiplagiatexpert.ru/>) of the submitted manuscript is performed.

Publishers and editors shall take reasonable steps to identify and prevent publication of papers where research misconduct has occurred. In no case shall a publisher or editors encourage such misconduct, or knowingly allow such misconduct to take place. When aware of any allegation of research misconduct, the publisher or editors shall deal with allegations appropriately. Publishers and editors should always be willing to publish corrections, clarifications, retractions and apologies when needed in accordance with the [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#).

The Editorial Office encourages scientific discussions and exchange of opinions on the pages of the Journal, including comments on published articles and responses to such comments.

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ В 2021 ГОДУ

Научно-теоретический журнал «Вестник защиты растений» претендует на статус издания международного уровня, в котором публикуются только новые, достоверные, качественно изложенные обзоры научной литературы и результаты экспериментальных исследований по фитосанитарной оптимизации агроэкосистем и другим актуальным темам, интересным широкому кругу специалистов по всему миру. В работе журнала принимают участие специалисты мирового уровня, представляющие такие страны, как Россия, Беларусь, Норвегия, Финляндия, Израиль, Китай, США и Канада. В 2021 году состав редколлегии пополнился исследователями из США (Юлия Соколова, Дмитрий Мавроди) и Канады (Мишель Кюссон). Редакция выражает особую благодарность члену редколлегии Андрею Аলেখину, взявшему на себя основную работу по коррекции английского языка аннотаций и полнотекстовых статей, публикуемых журналом.

Основная миссия журнала заключается в распространении научных знаний в области защиты растений и смежных дисциплин. Журнал поддерживает политику открытого доступа и соответствующие международные инициативы, сотрудничает с электронными библиотеками, обеспечивающими доступ к контенту на условиях открытого доступа.

Наукометрические показатели журнала продолжают расти, включая импакт-фактор РИНЦ и показатель журнала в рейтинге SCIENCE INDEX, а место журнала в этом рейтинге сменилось с 1196 (2019 г.) на 571 (2020 г.), то есть журнал уверенно вошел в первый квартиль РИНЦ. Места в данном рейтинге по тематике «Сельское и лесное хозяйство» и «Биология» составляют 45 и 43, соответственно.

Таким образом, научно-теоретический журнал «Вестник защиты растений» продолжает развитие в направлении выбранной цели – достичь мирового уровня в своей области по качеству публикуемого научного материала.

Название показателя	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Число статей в РИНЦ	39	57	46	61	47	162	43	54	30	34
Число выпусков журнала в РИНЦ	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Показатель журнала в рейтинге SCIENCE INDEX	0,044	0,090	0,065	0,160	0,237	0,193	0,251	0,354	0,383	0,960
Место журнала в рейтинге SCIENCE INDEX	1363	1131	1678	1237	1097	1429	1351	1143	1196	571
Двухлетний импакт-фактор РИНЦ	0,284	0,354	0,229	0,214	0,280	0,509	0,297	0,307	0,577	0,798
Двухлетний импакт-фактор РИНЦ без самоцитирования	0,193	0,278	0,146	0,136	0,243	0,352	0,230	0,234	0,443	0,690
Двухлетний импакт-фактор РИНЦ с учетом цитирования из всех источников	0,307	0,506	0,583	0,379	0,411	0,806	0,517	0,595	0,948	1,071
Двухлетний импакт-фактор по ядру РИНЦ	0,091	0,101	0,062	0,058	0,084	0,139	0,129	0,122	0,258	0,357
Двухлетний импакт-фактор по ядру РИНЦ без самоцитирования	0,091	0,101	0,062	0,058	0,084	0,139	0,129	0,122	0,258	0,357

“PLANT PROTECTION NEWS” IN 2021

Scientific journal “Plant Protection News” pretends to be a globally acknowledged edition which publishes only novel, reliable and well-designed reviews and experimental papers concerning phytosanitary optimization of agricultural ecosystems and other relevant topics attracting interest of a broad scope of specialists around the world. Experts acknowledged at the global scale participate in the Journal’s work, representing Russia, Belarus, Norway, Finland, Israel, China, US and Canada. In 2021, the Editorial Board has been replenished by researchers from US (Yuliya SOKolova, Dmitriy Mavrodi) and Canada (Michel Cusson). The Editorial Office is indebted to Andrei Alyokhin who has taken responsibility for English correction of the manuscripts and metadata.

Main mission of the Journal is dissemination of scientific knowledge in the field of plant protection and related disciplines. The Journal supports Open Access policy and respective international initiatives, collaborates with digital libraries supporting free access to the content.

Scientometrics indices of the Journal continue to grow, including impact-factor of RISC and the SCIENCE INDEX rating, while position of the Journal in this system has changed from 1196 in 2019 to 571 in 2020, implying sustainable attribution to the first quartile of Russian Index of Scientific Citation on the platform of eLIBRARY.RU. Positions within the specific subject areas “Agriculture and Forestry” and “Biology” are 45 and 43, respectively.

Thus, the journal “Plant Protection News” continues to develop in direction of its main goal to achieve world-wide acknowledgement in its field due to publication of sound scientific material.

СОДЕРЖАНИЕ ЖУРНАЛА "ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ" ЗА 2021 ГОД (ТОМ 104, ВЫПУСКИ 1–4)

PLANT PROTECTION NEWS, CONTENTS OF 2021 (VOLUME 104, ISSUES 1–4)

Выпуск 1 (Issue 1)

Предисловие к 104 тому	4
Preface to the 104 volume	5
<i>Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews</i>	
Перспективные подходы к поиску метаболитов грибов для борьбы с вредными членистоногими	
А.О. Берестецкий, Г.Р. Леднев, Ц. Ху	
Promising approaches to the search for fungal metabolites for management of arthropod pests	
A.O. Berestetskiy, G.R. Lednev, Q. Hu	6
<i>Мини-обзоры / Mini-reviews</i>	
Капустная моль <i>Plutella xylostella</i>: эколого-биологические аспекты, вредоносность, контроль численности	
И.В. Андреева, Е.И. Шаталова, А.В. Ходакова	
The diamondback moth <i>Plutella xylostella</i> : ecological and biological aspects, harmfulness, population control	
I.V. Andreeva, E.I. Shatalova, A.V. Khodakova	28
<i>Полнотекстовые статьи / Full-text articles</i>	
Технологии моделирования экологических ниш как инструмент анализа фитосанитарного риска	
А.Н. Афонин, Ю.Ю. Кулакова, Ю.А. Федорова	
Environmental niche modelling as tool for pest risk assessment	
A.N. Afonin, Yu.Yu. Kulakova, Yu.A. Fedorova	40
Is <i>Aporia crataegi</i> an unsuitable host of <i>Wolbachia</i> symbionts?	
Р.А. Быков, Г.В. Юрлова, М.А. Деменкова, Ю.Ю. Пинский	
<i>Aporia crataegi</i> неудобный хозяин для <i>Wolbachia</i> ?	
Р.А. Быков, Г.В. Юрлова, М.А. Деменкова, Ю.Ю. Илинский	53
<i>Хроника / Chronicle</i>	
Памяти Владимира Тихоновича Алёхина	
In memory of Vladimir T. Alyokhin	61
Научные мероприятия в 2021 году	
Scientific Events in 2021	64

Выпуск 2 (Issue 2)

<i>Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews</i>	
Санитарно-эпидемиологическое значение и резистентность к инсектицидам природных популяций комнатной мухи <i>Musca domestica</i>	
Т.А. Давлианидзе, О.Ю. Еремина	
Sanitary and epidemiological significance and resistance to insecticides in the housefly <i>Musca domestica</i>	
T.A. Davlianidze, O.Yu. Eremina	72
<i>Полнотекстовые статьи / Full-text articles</i>	
Подбор генов-мишеней для диагностики штаммов <i>Xanthomonas arboricola</i>, патогенных для злаковых и капустных культур	
Е.И. Кырова, А.Н. Игнатов	
Selection of target genes for PCR diagnostics of <i>Xanthomonas arboricola</i> virulent for cereals and brassicas	
E.I. Kyrova, A.N. Ignatov	87
Биологическая активность дерново-подзолистой супесчаной почвы при мелиоративном внесении гидрогелей	
Т.Н. Данилова, Ю.В. Хомяков, П.Ю. Конончук	
Biological activity of sod-podzolic sand soil amended by hydrogels	
T.N. Danilova, Yu.V. Khomyakov, P.Yu. Kononchuk	97
Потеря эффективности генов устойчивости к стеблевой ржавчине <i>Sr25</i> и <i>Sr6Agi</i> на территории Нижнего Поволжья	
О.А. Баранова, С.Н. Сибикеев, А.Е. Дружин, И.Д. Созина	
Loss of effectiveness of stem rust resistance genes <i>Sr25</i> and <i>Sr6Agi</i> in the Lower Volga region	
O.A. Baranova, S.N. Sibikeev, A.E. Druzhin, I.D. Sozina	105
Оценка устойчивости сортов картофеля из коллекции ВИР к <i>Phytophthora infestans</i> в лабораторном изучении	
Н.М. Зотеева, О.С. Косарева	
Assessment of the varieties from the VIR's potato collection for resistance to <i>Phytophthora infestans</i> in laboratory assays	
N.M. Zoteyeva, O.S. Kosareva	113

Краткие сообщения / Short Communications**Оценка устойчивости сортообразцов костреца безостого к возбудителю темно-бурой пятнистости на искусственном инфекционном фоне****Н.Ю. Костенко**

Sustainability assessment of the resistance of smooth brome grass varieties to the causative agent of helminthosporiosis on an artificial infectious background

N.Yu. Kostenko 120

Biodiversity of the *Fusarium* fungi causing root rot of winter cereals in Belarus**N.A. Krupenko, S.F. Buga, A.G. Zhukovskiy, I.N. Odintsova, A.A. Zhukovskaya, T.G. Pilat, V.G. Leshkevich**Видовое разнообразие грибов рода *Fusarium*, вызывающих корневую гниль озимых зерновых культур в Беларуси

Н.А. Крупенько, С.Ф. Буга, А.Г. Жуковский, И.Н. Одинцова, А.А. Жуковская,

Т.Г. Пилат, В.Г. Лешкевич 124

Хроника / Chronicle**О прошедшем мероприятии: первый виртуальный съезд общества патологии беспозвоночных 128****Past conference: first virtual meeting of the society for invertebrate pathology 128****Выпуск 3 (Issue 3)**Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews**Современные группы инсектицидов: диамиды и мета-диамиды****Т.А. Давлианидзе, О.Ю. Еремина**

Modern groups of insecticides: diamides and meta-diamides

Т.А. Davlianidze, O.Yu. Eremina 132

Мини-обзоры / Mini-reviews**Does arbuscular mycorrhiza favor invasion of some Asteraceae tribes?****D.M. Malygin, M.N. Mandryk-Litvinkovich, S.V. Sokornova**

Способствует ли арбускулярная микориза инвазии видов Asteraceae?

Д.М. Малыгин, М.Н. Мандрик-Литвинкович, С.В. Сокоорнова 144

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Контаминация зерна в Западной Сибири грибами *Alternaria* и их микотоксинами****A.S. Orina, O.P. Gavrilova, T.Yu. Gagkaeva, N.N. Gogina**Contamination of grain in West Siberia by *Alternaria* fungi and their mycotoxins

A.S. Orina, O.P. Gavrilova, T.Yu. Gagkaeva, N.N. Gogina 153

Compatibility of the fungus *Lecanicillium muscarium* and the predatory mite***Amblyseius swirskii* for their combined application against the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*****G.V. Mitina, L.P. Krasavina, O.V. Trapeznikova**Совместимость гриба *Lecanicillium muscarium* и хищного клеща *Amblyseius swirskii*для совместного применения против тепличной белокрылки *Trialeurodes vaporariorum*

Г.В. Митина, Л.П. Красавина, О.В. Трапезникова 163

Хроника / Chronicle**Памяти Людмилы Ивановны Трепашко**

In memory of Lyudmila I. Trepashko 171

Новые члены редколлегии журнала «Вестник защиты растений»

New members of the Editorial Board of the journal «Plant Protection News» 173

Условия доступа и авторские права на материалы, публикуемые в журнале**«Вестник защиты растений»**

Open access and copyright for the materials published in “Plant Protection News” 175

Шаблон лицензионного соглашения журнала “Вестник защиты растений”

Copyright agreement form of the journal “Plant Protection News” 179

Система электронного редактирования журнала «Вестник защиты растений»

Electronic Editing System of the Journal “Plant Protection News” 180

Выпуск 4 (Issue 4)Полнотекстовые обзоры / Full-text reviews**Введение в молекулярную диагностику насекомых****A.S. Ryabinin, R.A. Bykov, V.K. Lapshina, A.A. Maslakova, M.A. Demenkova, Y.Y. Ilinsky**

Introduction to Molecular Diagnostics of Insects

A.S. Ryabinin, R.A. Bykov, V.K. Lapshina, A.A. Maslakova, M.A. Demenkova, Y.Y. Ilinsky 184

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Пораженность картофеля вирусами в Республике Башкортостан и активность рибонуклеаз****Р.М. Хайруллин, Д.В. Гарифуллина, С.В. Веселова, Е.А. Черепанова, И.В. Максимов**

Potato infection with viruses in the Republic of Bashkortostan and ribonuclease activity in tubers

R.M. Khairullin, D.V. Garifullina, S.V. Veselova, E.A. Cherepanova, I.V. Maksimov 196

Эффективность защиты яровой пшеницы биопрепаратами и фунгицидами в лесостепи Приобья:**I. Первые результаты в экстремальных погодных условиях****Н.Г. Власенко, В.А. Павлюшин, О.И. Теплякова, О.В. Кулагин, Д.О. Морозов**

Protection of spring wheat with biopreparations and fungicides in the forest steppe of Priobye:

I. First results in extreme weather conditions

N.G. Vlasenko, V.A. Pavlyushin, O. I. Teplyakova, O.V. Kulagin, D.O. Morozov 202

Краткие сообщения / Short Communications***Botryosphaeria sinensis* – первая находка на люпине белом****Е.Л. Гасич, А.С. Орина**The first detection of *Botryosphaeria sinensis* on white lupine

E.L. Gasich, A.S. Orina 213

Вариабельность заселяемости сортов розы паутинным клещом *Tetranychus urticae* на фоне применения***Phytoseiulus persimilis* и акарицидов****В.В. Моор, А.И. Анисимов, Е.Г. Козлова**Variability of infestation of rose varieties by the spider mite *Tetranychus urticae* under conditions of application of *Phytoseiulus persimilis* or acaricides

V.V. Moor, A.I. Anisimov, E.G. Kozlova 218

Characterization of *Zymoseptoria tritici* populations in Belarus by morphologic and cultural features**Н.А. Крупенко, И.Н. Одицова**Дифференциация популяций гриба *Zymoseptoria tritici* в Беларуси по морфолого-культуральным признакам

Н.А. Крупенько, И.Н. Одинцова 223

О журнале 226**About the Journal 227****Новые члены редколлегии журнала «Вестник защиты растений» 228****New members of the “Plant Protection News” Editorial Board. 228****Руководство для авторов 229****Контрольный список подготовки материала к отправке 234****Author Guidelines 235****Submission Preparation Checklist 237****Система электронного редактирования журнала «Вестник защиты растений» 238****Electronic Editing System of the Journal “Plant Protection News” 239****Рецензирование 240****Reviewing process 241****Этические принципы 243****Ethics 244****Вестник защиты растений в 2021 году 245****“Plant Protection News” in 2021 245****Содержание журнала “Вестник защиты растений” за 2021 год (том 104, выпуски 1–4)**

Plant Protection News, Contents of 2021 (volume 101, issues 1–4) 246

Научное издание**Индекс 36189****Подписано к печати 21 декабря 2021 г.****Формат 60x84/8. Объем 8 1/2 п.л. Тираж 300 экз. Заказ**

Индекс 36189