ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ (РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)
ФГБУ «ВСЕРОССИЙСКИЙ ЦЕНТР КАРАНТИНА РАСТЕНИЙ» (ФГБУ «ВНИИКР»)

АгроБезопасность

КАРАНТИН РАСТЕНИЙ
НАУКА И ПРАКТИКА

ДЕКАБРЬ
4| 18| 2016

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ ЖУРНАЛ

ЛИСТОБЛОШКА *ACIZZIA JAMATONICA* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE: ACIZZINAE) – ОПАСНЫЙ ВРЕДИТЕЛЬ АЛЬБИЦИИ ИЗ ВОСТОЧНОЙ АЗИИ, ИНТРОДУЦИРОВАННЫЙ В КРЫМ И КРАСНОДАРСКИЙ КРАЙ стр. 6

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕДИЦИЯ В РЕСПУБЛИКУ ПЕРУ стр. 15

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕДИЦИЯ В КИРГИЗИЮ ВО ВНУТРЕННИЙ ТЯНЬ-ШАНЬ стр. 36

PSYLLID *ACIZZIA JAMATONICA* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE: ACIZZINAE), A DANGEROUS PEST OF ALBIZIA FROM THE EASTERN ASIA, INTRODUCED INTO THE CRIMEA AND THE KRASNODAR KRAI page 11

ENTOMOLOGIC EXPEDITION TO THE REPUBLIC OF PERU page 20

ENTOMOLOGIC EXPEDITION TO KYRGYZSTAN TO THE INNER TIAN SHAN page 40

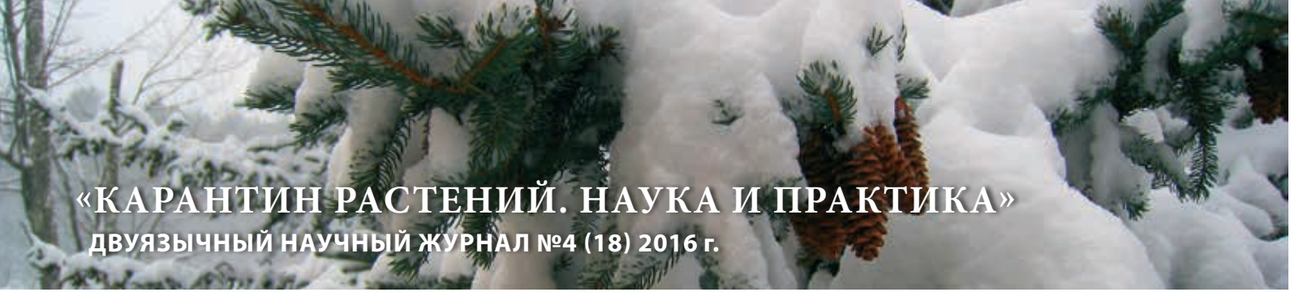
RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL

PLANT HEALTH
RESEARCH AND PRACTICE

DECEMBER
4| 18| 2016

ISSN 2306-9767

FEDERAL SERVICE FOR VETERINARY AND PHYTOSANITARY SURVEILLANCE (ROSSELKHOZNADZOR)
ALL-RUSSIAN PLANT QUARANTINE CENTER



«КАРАНТИН РАСТЕНИЙ. НАУКА И ПРАКТИКА»

ДВУЯЗЫЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ №4 (18) 2016 г.

Главный редактор:
А.Я. Сапожников,
директор ФГБУ «ВНИИКР»

Шеф-редактор:
Светлана Зиновьева,
начальник отдела по связям
с общественностью и СМИ
ФГБУ «ВНИИКР»

Выпускающие редакторы:
Ольга Лесных,
Юлия Мелано,
Кристина Михеева
e-mail: karantin.r@yandex.ru

**Редакционная коллегия
журнала «Карантин растений.
Наука и практика»:**

Швабаускене Ю.А. — заместитель Руководителя Россельхознадзора

Долженко В.И. — академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук, заместитель директора Всероссийского НИИ защиты растений

Надыкта В.Д. — академик РАН, доктор технических наук, директор Всероссийского НИИ биологической защиты растений

Павлюшин В.А. — академик РАН, доктор биологических наук, директор Всероссийского НИИ защиты растений

Санин С.С. — академик РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом Всероссийского НИИ фитопатологии

Мартин Уорд — Генеральный директор ЕОКЗР

Рингольдс Арнитис — Президент ЕОКЗР

Ханну Кукконен — директор подразделения фитосанитарного надзора, EVIRA (Финляндия)

Сагитов А.О. — доктор биологических наук, Генеральный директор ТОО «Казахский НИИ защиты и карантина растений»

Сорока С.В. — кандидат сельскохозяйственных наук, директор РУП «Институт защиты растений» НАН Республики Беларусь

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

Абасов М.М. — доктор биологических наук, заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР»

Мазурин Е.С. — кандидат биологических наук, заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР»

Шероколава Н.А. — заместитель директора ФГБУ «ВНИИКР», вице-президент ЕОКЗР

Яковлева В.А. — кандидат биологических наук, начальник отдела по взаимодействию с Россельхознадзором ФГБУ «ВНИИКР»

Камаев И.О. — кандидат биологических наук, начальник Научно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИКР»

РЕДАКЦИЯ:

Волкова Е.М. — заведующая лабораторией сорных растений

Волков О.Г. — начальник отдела биометода

Кулинич О.А. — доктор биологических наук, начальник отдела лесного карантина

Приходько Ю.Н. — кандидат сельскохозяйственных наук, начальник научно-методического отдела фитопатологии

Скрипка О.В. — заведующая лабораторией микологии

Кучерявых В.С. — переводчик отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия НАЦ

Усачева С.Е. — переводчик отдела фитосанитарных рисков и международного взаимодействия НАЦ

Дизайн и верстка:
Мария Поваляева

Корректор:
Татьяна Артемьева

**Менеджер по подписке
и дистрибуции:**
Павел Сафронов
+7 495 641 64 72
+7 903 505 33 23

Журнал «Карантин растений. Наука и практика» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор), свидетельство о регистрации ПИ № ФС77-52594 от 25 января 2013 г.

Учредитель: ООО «Успех», выпускается по заказу Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)

Издатель: ООО «Успех» (105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д. 13, оф. 402)
Адрес редакции: 105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д. 13, оф. 402

Типография: ООО «Юнион Принт»,
603022, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, Окский Съезд, д. 2, тел.: 8 (831) 439-44-99
Дата выхода 00.12.2016 г. Тираж 2000 экземпляров. Подписной индекс 70195 в Каталоге Агентства «Роспечать»

СОДЕРЖАНИЕ CONTENT

I. ЮБИЛЕЙ

К 85-летию карантинной службы **4**

II. НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ КАРАНТИНА РАСТЕНИЙ

Листоблошка *Acizzia Jamatonica* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae: Acizzinae) - опасный вредитель альбиции из Восточной Азии, интродуцированный в Крым и Краснодарский край
А.Г. Блюммер, научный сотрудник Воронежского филиала ФГБУ «ВНИИКР» **6**

Энтомологическая экспедиция в Республику Перу
Я.Н. Коваленко, научный сотрудник НМО энтомологии ФГБУ «ВНИИКР»
М.Г. Коваленко, и.о. зав. лабораторией энтомологии ИЭЦ ФГБУ «ВНИИКР»
Ю.А. Ловцова, научный сотрудник НМО энтомологии ФГБУ «ВНИИКР» **15**

Бактерии, связанные с нематодами-ксилофагами рода *Bursaphelenchus*, как возможные возбудители вилта хвойных пород
О.А. Кулинич/**, Н.В. Дренова*, Е.Н. Арбузова*, Н.И. Козырева**, Е.С. Мазурин**
** ФГБУ «ВНИИКР»*
*** Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Центр паразитологии* **25**

Энтомологическая экспедиция в Киргизию во Внутренний Тянь-Шань
А.В. Филиппов, ведущий агроном Бурятской испытательной лаборатории Иркутского филиала ФГБУ «ВНИИКР» **36**

Влияние модификаторов на аттрактивность феромона каштановой моли *Cameraria Ohridella* Deschka et Dimič, 1986
Н.М. Атанов, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
Н.П. Кузина, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
А.А. Кузин, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
М.В. Чирская, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР» **44**

Стажировка специалистов ФГБУ «ВНИИКР» в области диагностики фитопатогенов в Национальном институте биологии Словении
Г.Н. Матяшова, научный сотрудник научно-экспериментального отдела Научно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИКР»
М.А. Тихомирова, младший научный сотрудник лаборатории вирусологии Испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР» **50**

I. ANNIVERSARY

To the 85th Anniversary of Plant Quarantine Service **4**

II. RESEARCH STUDIES IN PLANT QUARANTIN

Psyllid *Acizzia Jamatonica* Kuwayama, 1908 (Hemiptera: Psyllidae: Acizzinae), a Dangerous Pest of Albizia from the Eastern Asia, Introduced into the Crimea and the Krasnodar Krai
A.G. Bliummer, Researcher of Voronezh Branch of FGBU "VNIIKR" **11**

Entomologic expedition to the Republic of Peru
Y.N. Kovalenko, Researcher of Scientific and Methodological Department of FGBU "VNIIKR"
M.G. Kovalenko, Acting Head of the Entomology Laboratory of Expert Test Center of FGBU "VNIIKR"
Y.A. Lovtsova, Researcher of Scientific and Methodological Department of FGBU "VNIIKR" **20**

Bacteria Associated with Wood-Inhabiting *Bursaphelenchus* Nematodes, as the Potential Causative of Pine Wilt Disease
O.A. Kulinich/**, N.V. Drenova*, E.N. Arbuzova*, N.I. Kozyreva**, E.S. Mazurin**
** FBGU "VNIIKR"*
*** A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Parasitology Center, RAS* **30**

Entomologic Expedition to Kyrgyzstan to the Inner Tian Shan
A.V. Filippov, Leading Agronomist in Buryat Research Laboratory of FGBU "VNIIKR" Irkutsk Branch **40**

Impact of Modifiers on the Attractiveness of the Horse-Chestnut Leaf-Miner's Pheromone *Cameraria Ohridella* Deschka et Dimič, 1986
N.M. Atanov, Leading Researcher of FGBU "VNIIKR"
N.P. Kuzina, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR"
A.A. Kuzin, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR"
M.V. Chirskaya, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR" **47**

Training for FGBU "VNIIKR" Experts in the Field of Diagnosis of Plant Pathogens at the National Institute of Biology in Slovenia
G.N. Matyashova, Researcher, Research and Testing Department of Scientific and Analytical Center of FGBU "VNIIKR"
M.A. Tikhomirova, Junior Researcher, Virology Laboratory of Expert Test Center of FGBU "VNIIKR" **55**

К 85-ЛЕТИЮ КАРАНТИННОЙ СЛУЖБЫ

Главное богатство и достижение карантинной службы – это ее люди, высококлассные специалисты, преданные своему делу. О лучших из них мы будем рассказывать на страницах нашего журнала в течение юбилейного года.

ЖАМСАРАНОВА ЦЫЦЫК

Общий стаж работы Цыцык Жамсарановой 35 лет, в том числе в области карантина растений – 22 года. В карантинной службе она работала в должностях госинспектора, начальника Читинского пограничного пункта по карантину растений; с 2005 года переведена в Территориальное управление Россельхознадзора по Читинской области и Агинскому Бурятскому автономному округу на должность старшего госинспектора. Со дня образования в 2007 году Забайкальского филиала ФГБУ «ВНИИКР» работает в нем в должности агронома второй категории.

Цыцык Жамсаранова неоднократно участвовала в совещаниях по вопросам лесного карантина в Москве, Иркутске, Нижнем Новгороде, Сыктывкаре. Была представителем страны на первых международных курсах по лесному карантину в Нижегородской области в 2001 году. В 2002 году принимала активное участие в международных переговорах по вопросам лесного карантина в рамках Меморандума по введению дополнительных требований к фитосанитарному состоянию круглых лесоматериалов, поставляемых в КНР из России.

Имеет многочисленные грамоты и благодарственные письма от ФГБУ «ВНИИКР», ТУ Россельхознадзора, губернатора Забайкальского края.

ВЕЧКАСОВ ЮРИЙ ИВАНОВИЧ

Юрий Иванович Вечкасов являлся директором Пензенского филиала ФГБУ «ВНИИКР» с момента его организации в 2006 году по 2014 год.

Под руководством Юрия Ивановича филиал достиг больших успехов в деле карантина растений. В 2007 году Юрий Иванович организовал лабораторию по оценке качества и безопасности зерна и продуктов его переработки, которая работает и сейчас. В 2008 году филиал начал проводить также обеззараживание подкарантинных материалов.

Благодаря своим организаторским способностям Юрий Иванович сумел создать профессиональный и сплоченный коллектив, который дает высокие показатели в области карантина растений. Его авторитет, огромный административный опыт и богатые знания в агропромышленной сфере позволили создать филиал, в трудное время удержать его «на плаву» и планомерно расширять его деятельность по разным направлениям.

Юрий Иванович и в настоящее время помогает развитию филиала, обучая молодых специалистов азам «карантинного дела».

НИКИТЕНКО ТАМАРА МИХАЙЛОВНА

Окончив в 1970 году Биробиджанский сельскохозяйственный техникум по специальности «агроном», Тамара Михайловна Никитенко была направлена на работу в Приморский край, где возглавила бригаду растениеводов. Затем в качестве агронома вернулась в Хабаровск на станцию защиты растений, училась заочно в Приморском сельскохозяйственном институте. Организаторские способности опытного специалиста не остались незамеченными. В 1987 году ее пригласили на должность главного агронома Дальневосточного военного округа. В ее ведении были девять военных совхозов. Конечно, оставаться узким специалистом на такой ответственной должности было невозможно. Тамару Михайловну знали все агрономические структуры края, и она могла выбирать для дальнейшего совершенствования в профессии любую из них. В 2001 году Тамара Михайловна перешла в Пограничную госинспекцию по карантину растений Хабаровского края, а в период реорганизации Пограничной госинспекции – в Хабаровский филиал ФГБУ «ВНИИКР» на должность агронома 13 разряда.

Ее грамотная и принципиальная позиция в решении любых профессиональных вопросов всегда вызывала безоговорочное уважение. Рядом с ней особенно надежно чувствовали себя молодые специалисты, потому что никогда и никому она не отказывала в профессиональной помощи. Поэтому и отдых на пенсии для этой энергичной, жизнерадостной, умной женщины был отодвинут еще на десяток лет.

Тамара Михайловна – агроном по призванию.

ЧЕРЕНКОВ СЕРГЕЙ ВАЛЕНТИНОВИЧ

Сергей Валентинович Черенков работает агрономом в Волгоградском филиале ФГБУ «ВНИИКР» с 2008 года. В зоне его ответственности – четыре района Волгоградской области, стационарное рабочее место находится в г. Калач-на-Дону. Сергей Валентинович – опытнейший специалист, который посвятил непрерывной работе в службе карантина растений более 26 лет. За эти годы он проявил себя как добросовестный, ответственный, высококвалифицированный работник, безотказно выполняющий свои должностные обязанности. Только за первые пять месяцев 2016 года им было проверено 1535 партий продовольственных грузов общим объемом 58345 т и выявлено 160 случаев заражения карантинными вредными организмами.

Сергей Валентинович Черенков владеет всеми необходимыми методами карантинных экспертиз и успешно применяет их в работе, прекрасно ориентируется в фитосанитарной ситуации региона.

За добросовестный продолжительный труд в сфере карантина растений Волгоградской области в 2012 году Сергей Валентинович Черенков награжден Почетной грамотой Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

УДК 632.725.6

ЛИСТОБЛОШКА *ACIZZIA JAMATONICA* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE: ACIZZINAE) –

опасный вредитель альбиции из Восточной Азии, интродуцированный в Крым и Краснодарский край

А.Г. Блюммер, научный сотрудник Воронежского филиала ФГБУ «ВНИИКР»

Аннотация. *В статье описана история расселения ацциззии мимозовой Acizzia jamatonica Kuwayata – опасного вредителя альбиции ленкоранской – за пределы природного ареала и формирования ее вторичного (инвазийного) ареала. Приведены данные по распространению листоблошки в Крыму и Краснодарском крае. Охарактеризованы ее биология, вредоносность, меры химической борьбы. Упомянуты энтомофаги листоблошки, обнаруженные в ее колониях на мимозе в Крыму, и высказано предположение о перспективности использования биометода для контроля популяций фитофага. Высказана рекомендация о присвоении фитофагу в перспективе статуса регулируемого некарантинного организма.*

Ключевые слова. *Acizzia jamatonica, Psyllidae, Acizzinae, фитофаг, Albizia julibrissin, интродукция, Европа, Крым, Краснодарский край.*

Листоблошки (Psyllidae) – крупное семейство полужесткокрылых насекомых (Hemiptera). Личинки этих насекомых способны совершать прыжки, откуда и произошло название семейства. Мировая фауна листоблошек подотряда Sternorrhyncha, к которому относится семейство Psyllidae, включает 16 000 видов (Forero, 2008). Род *Acizzia* насчитывает более 40 видов (http://eol.org/pages/3704507/overview). Все они трофически связаны с древесными растениями, преимущественно бобовыми (Fabaceae) (Hodkinson, Hollis, 1987). Ряд видов *Acizzia* широко распространились за пределы своих природных ареалов. Помимо *Acizzia jamatonica* – мимозной листоблошки, это, например, австралийские *Acizzia acaciaebaileyanae*, *A. hakae*, *A. unkatoides*, которые были занесены в Северную Америку, где успешно акклиматизировались.

Ациззия мимозовая (*Acizzia jamatonica* Kuwayama) является самым опасным вредителем альбиции из всех ее фитофагов. После обнаружения в Европе в 2004 г. данный вид был включен в Сигнальный список ЕОКЗР (EPPO Alert List). Уже через два года стало ясно, что с помощью карантинных фитосанитарных мер контролировать ее распространение на европейском континенте невозможно, и вид был исключен из этого списка.

Кормовое растение мимозной листоблошки – альбиция ленкоранская (*Albizia julibrissin*), называемая также шелковой мимозой, шелковым деревом или ленкоранской акацией, относится к роду тропических деревьев и кустарников семейства Бобовые (Fabaceae). Дерево имеет раскидистую зонтикообразную крону. Его сложные листья похожи на листья акаций. Дерево очень декоративно, особенно во время цветения, когда оно обильно покрыто изящными ароматными цветками с очень длинными тычинками (рис. 1-5). Дерево широко используется в Южной Европе и в Средиземноморье из-за своих декоративных качеств, быстрого роста, продолжительного периода цветения (июнь-сентябрь), устойчивости к неблагоприятным факторам городской среды. Альбиция часто встречается в декоративных посадках, в частных и общественных садах, в парках. Высаживается вдоль оживленных автодорог и вблизи автомобильных парковок, поскольку обладает устойчивостью к выхлопным газам. В холмистых местностях, подверженных эрозии и дефляции, ее насаждения используются для укрепления склонов.

В качестве декоративного растения альбиция интродуцирована во многие страны субтропической и тропической зон земного шара: в Азербайджан, Иран, Турцию, Среднюю Азию (Узбекистан), страны Восточной и Юго-Восточной Азии (Китай, Японию, Тайвань), на Индийский субконтинент (Бутан, Индию, Непал, Кашмир), в Бирму. Произрастает в США, Аргентине, Бразилии и других странах Южной Америки (Zheng et al., 2004). Хорошо растет альбиция в Крыму (Ялта, Симферополь, Севастополь и др. города), на Черноморском побережье Кавказа. Особенно многочисленна в Керчи, где часто встречается на аллеях и во многих скверах города.

Известна и дикорастущая альбиция, например в Азербайджане, в нижнем поясе Талышских гор (до 200 м над уровнем моря).

Происхождение *Acizzia jamatonica* связано с восточноазиатским регионом, являющимся родиной ее кормового растения. Мимозная листоблошка – мелкое насекомое. Длина тела самца – 1,8-2 мм, самки – 2-2,3 мм (рис. 7). Тело незимовавших имаго желто-зеленое, перезимовавших – красновато-коричневое (Карпун, Журавлева, 2015). Крылья бледно-желтые, без темного рисунка.

Яйца 0,3 мм в длину, продолговатой формы, желтого или оранжевого цвета. На их базальном конце имеется вырост, который при кладке внедряется в ткань листовой пластинки и надежно закрепляет яйцо на листе. Яйца откладываются самкой на почки, центральную жилку листа, вдоль края листовой пластинки, иногда – на нижнюю поверхность листьев.

Личиночных возрастов пять. Личинка первого возраста светло-желтая, почти прозрачная; личинки со второго по пятый возраст – желтовато-зеленоватые. Личинка пятого возраста со светло-коричневыми усиками. У нее хорошо различимы зачатки крыльев и рудиментарные конечности. Вершинные членики антенн и ноги темно-коричневые. Глаза розового цвета.

Личинки активно питаются растительными соками на листьях, цветах и молодых стручках альбиции ленкоранской. При этом они выделяют большое количество экскрементов (пади, или «медвяной росы») в белой восковой оболочке.

В году развивается не менее трех поколений. По наблюдениям, в Хорватии, Греции и Словакии может давать четыре поколения, накладывающихся друг на друга (Simala et al., 2006; Lauterer et al., 2011).

В субтропиках Причерноморья зимующее поколение выходит из диапаузы при устойчивых среднесуточных температурах +15° С, что коррелирует с возобновлением вегетации альбиции. Уже в третьей декаде марта самки первой генерации откладывают яйца на почки растения. В зависимости от температуры развитие яиц длится от двух до трех недель. Отрождение личинок наблюдается во второй декаде апреля. Развитие личинки от первого до пятого возраста продолжается 4 недели. Имаго первого летнего поко-

Мировая фауна листоблошек подотряда Sternorrhyncha, к которому относится семейство Psyllidae, включает 16 000 видов.

Рис. 1. Альбиция ленкоранская в Крыму (г. Ялта, Приморский бульвар) (фото А. Сотникова; http://images.esosedi.ru/albitsiya_lenkoranskaya_albizzia/956448)

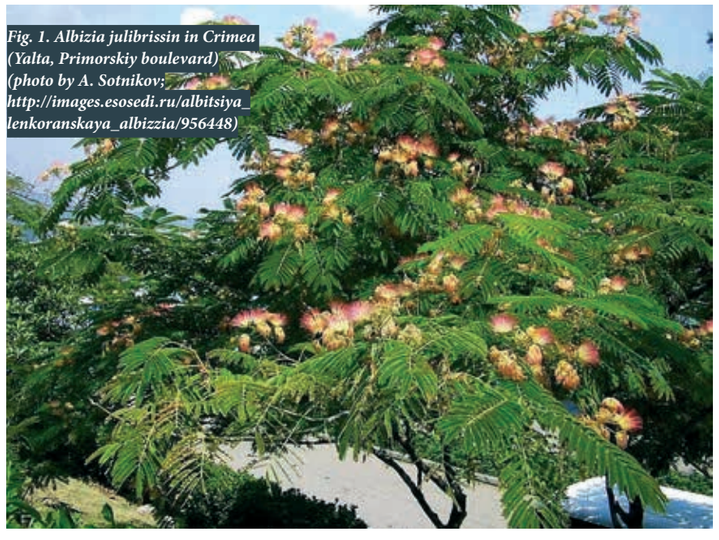


Рис. 2. Альбиция ленкоранская в г. Краснодаре (фото М. Денисенко; http://www.tvplaneta.ru/forum/index.php?page=4&showtopic=27762)

Fig. 3. Roadside alley of Albizia julibrissin in Turkey (http://godolloikerteszet.hu/termek/kinai_selyemakac_albizia_julibrissin.html)

Рис. 3. Придорожная аллея Albizia julibrissin в Турции (http://godolloikerteszet.hu/termek/kinai_selyemakac_albizia_julibrissin.html)

ления активны в первой декаде мая. В первой-второй декадах мая самки откладывают яйца второй генерации листоблошки. В августе-сентябре отрождаются имаго третьего поколения. В летние месяцы можно наблюдать все стадии развития насекомого одновременно (Карпун, Журавлева, 2015). Зимует насекомое в стадии имаго не на кормовом растении, а на хвойных деревьях.

До 1980 года ациззия мимозная была известна только из Японии (Kuwayama, 1908). В 80-х годах прошлого века она начала расселяться по странам восточноазиатского региона. Распространение насекомого происходило в основном с посадочным материалом альбиции, в частности – с саженцами в контейнерах и, вероятно, бонсай. В 2003 году *A. jamatonica* была найдена в Англии на ввезенных крупномерных саженцах альбиции. В 1983 году она была впервые выявлена в Республике Корея (Kwon, 1983), в 1984 г. – на Тайване (Yang, 1984), в 1992 г. – в Китае (Lauterer, 2011).

Первая европейская находка *A. jamatonica* сделана на севере Италии в 2001 году в регионе Пьемонт, в Турине (Zandigiacomo et al., 2002; Alma et al., 2002; ERS, 2002/058). Впоследствии листоблошка распространилась по нескольким административным регионам этой страны: Фриули – Венеция-Джулия, Ломбардия, Венето, а также провинции Валли ди'Аоста (EPPO, 2006). Вселенец проник в страны Южной Европы: Словению (Seljak, 2004), Хорватию (Истрия) (Simala et al., 2006), Швейцарию (Тичино) (Kenis, 2005), Францию (Воклюз) (Chapin, Cocquempot, 2005), Венгрию (Redel, Penzes, 2006), Испанию (Sánchez, Burckhardt, 2009), Болгарию (Harizanova et al., 2012), Сербию (Vétek et al., 2009), Грецию (Pasztor, 2010), Словакию (Lauterer et al., 2011), Черногорию (Malumphy et al., 2013).

С 2006 года мимозная листоблошка известна в США (Ulyshen, Miller, 2007). В настоящее время она встречается в штатах Алабама, Флорида, Северная и Южная Каролина, Теннесси, Джорджия (Wheeler, Hoebeke, 2009).

В августе 2011 года сотрудниками Крымского агротехнологического университета и Таврического национального университета им. В.И. Вернадского *Acizzia jamatonica* Kuwayama была впервые обнаружена в Крыму, в городе Симферополе и в поселке Форос (Стрюкова, Стрюков, 2012). В 2014 г. *A. jamatonica* впервые выявлена на Черноморском побережье Краснодарского края (Карпун, Журавлева, 2015).

Ациззия мимозная наносит большой ущерб кормовому дереву. Листья покрываются белыми восковыми шнуровидными и аморфными структурами. Их тургор падает, они желтеют, высыхают и опадают. При высокой численности листоблошки происходит преждевременная дефолиация деревьев. На листьях развивается сажистый гриб, использующий в качестве пищевого субстрата сладкие выделения личинок и имаго насекомого. Дерево чернеет, приобретает обугленный вид, теряет устойчивость. Если плотность популяции листоблошки сохраняется в течение 4-5 лет, дерево частично усыхает и может погибнуть.

Признаки поражения альбиции следующие: падение тургора и пожелтение листьев в летние месяцы; наличие на листовых пластинках нитевидных, иногда закрученных в спираль, длинных белых восковых трубочек и различных по форме образований из воска. Их бывает особенно много ближе к центральной жилке листа. Изменение внешнего вида кроны, восковые структуры на листьях, преждевременная дефолиация (на 1,5 месяца раньше обычных сроков) отрицательно сказываются на декоративных качествах дерева.

Распространение насекомого происходило в основном с посадочным материалом альбиции, в частности – с саженцами в контейнерах и, вероятно, бонсай.

По мнению экспертов ЕОКЗР, *A. jamatonica* представляет высокий фитосанитарный риск для насаждений альбиции в питомниках древесных растений (ERS, 2003). Контроль фитофага должен основываться на карантинных фитосанитарных мероприятиях. Необходимо ужесточить требования к производителям крупномерных саженцев альбиции, а также бонсай в тех странах Европы и Азии, где обитает эта псиллида. В силу того, что имаго листоблошки зимует на хвойных древесных растениях, следует уделять особое внимание посадочному материалу хвойных деревьев, происходящих из питомников Южной Европы и юга европейской части России.

Сотрудники ВНИИ цветоводства и субтропических культур (г. Сочи)

Fig. 4. Blooming Albizia julibrissin (http://photo.bigbo.ru/?p=2095)

Рис. 4. Цветущая альбиция ленкоранская (http://photo.bigbo.ru/?p=2095)

Н.Н. Карпун и Е.Н. Журавлева рекомендуют для борьбы с мимозной листоблошкой при вспышках численности и прямой угрозе гибели деревьев применять инсектициды (Карпун, Журавлева, 2015). При высокой численности вредителя может быть проведена двукратная обработка заселенного дерева препаратами на основе имидаклоприда (биотлин, тарек и др.); двукратное опрыскивание препаратами на основе абамектина, лямбда-цигалотрина, тиаметокса. Препараты при обработках следует чередовать во избежание появления резистентных особей. Ввиду того, что насаждения альбиции приурочены главным образом к городам и другим населенным пунктам, химический метод борьбы может применяться очень ограниченно.

Более перспективен биологический метод контроля численности. Установлены хищные насекомые – естественные враги фитофага. Это кокцинеллиды, хищные клопы – антокориды, мухи-сирфиды. В Европе хищные насекомые, нападающие на ациззию мимозную, установлены и изучены в аспекте их возможного разведения и применения в качестве агентов биологической борьбы, однако пока не используются. В Болгарии выявлено 13 видов насекомых, которые питаются яйцами и личинками *A. jamatonica*. Из них наиболее значимы божьи коровки (Harizanova et al., 2012). В Крыму в колониях вредителя на альбиции были обнаружены семиточечная и двухточечная коровки (*Coccinella septempunctata* и *Adalia bipunctata*), личинки сирфид (Стрюкова, Стрюков, 2012). На Черноморском побережье Краснодарского края на пораженных деревьях найдены кокцинеллиды *C. septempunctata*, *Chilocorus nigritus*, *Rodolia cardinalis*, *Lindorus lophanthae*, *Stethorus punctillum* и хищные клопы сем. Anthocoridae (Карпун, Журавлева, 2015).

Исходя из того, что листоблошка *Acizzia jamatonica* Kuwayama распространяется в основном с посадочным материалом, представляется актуальным рекомендовать данный вид для рассмотрения возможности включения его в Перечень регулируемых некарантинных вредных организмов Российской Федерации.

Если плотность популяции листоблошки сохраняется в течение 4-5 лет, дерево частично усыхает и может погибнуть.

Литература

1. Блюммер А.Г. Некоторые особенности интродукции в страны Европы и европейскую часть России насекомых азиатского происхождения – серьезных вредителей древесных растений // VIII Чтения памяти О.А. Катаева. Вредители и болезни древесных растений России. Материалы международной конференции. Санкт-Петербург, 18-20 ноября 2014 г. С. 5-6.

2. Карпун Н.Н., Журавлева Е.Н. Мимозная листоблошка *Acizzia jamatonica* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae): новый фитофаг альбиции на Черноморском побережье Кавказа // http://www.vniisybtrop.ru/novosti/465-mimoznaya-listobloshka-acizzia-jamatonica-...

3. Стрюкова Н.М., Стрюков А.А. Новая находка на альбиции // Материалы XLI Всеукраинской научной конференции. Таврический национальный университет, секция «Зоология». Симферополь, 21 апреля 2012 г. С. 19-20.

4. Alma A., Tedeschi R., Rossi J. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) a new psyllid for Europe (Homoptera, Psyllidae) // Informatore Fitopatologico, 2002. V. 52 (4). P. 64-65 (in Italien).

5. Chapin E., Cocquempot C. Psylle de l'Albizia: 1 ers signalements en France // PHM-Revue Horticole, 2005. V. 467. P. 49-52.

6. EPPO Reporting Service, Paris. 2002/058. *Acizzia jamatonica*: a new pest of *Albizia* found in Italy.

7. EPPO Reporting Service, Paris. 2003. EPPO report on notifications of non-compliance (detection of regulated pests), 175.

8. EPPO Reporting Service, Paris. 2004. First report of *Acizzia jamatonica* in France: addition to the EPPO Alert List, 153.

9. EPPO 2006. *Acizzia jamatonica* (Homoptera: Psyllidae) – a new pest of *Albizia*. Deletions from the EPPO Alert List: Panel review 2006-03.

10. Forero D. The systematics of the Hemiptera // Revista Colombiana de Entomología, 2008. V. 34 (1). P. 1-21.

11. Harizanova V., Stoeva A., Mohamedova M. Preliminary study on the invasive *Acizzia jamatonica* (Hemiptera: Psyllidae) and its predators in Bulgaria // Agricultural science and technology, 2012. V. 4 (1). P. 56-61.

12. Hodkinson I.D., Hollis D. The legume-feeding psyllids (Homoptera) of the West Palearctic Region // Bulletin of the British Museum (Natural

Fig. 5. Flowers of Albizia julibrissin (http://ru.mystockphoto.com/photograph/11-silk-tree-mimosa-albizia-julibrissin-in-tamu-m-university-1024826)

Рис. 5. Цветы альбиции ленкоранской (http://ru.mystockphoto.com/photograph/11-silk-tree-mimosa-albizia-julibrissin-in-tamu-m-university-1024826)

History). Entomology Series, 1987. V. 6. P. 1-86.

13. Kenis M. Insects-Insecta // In: Wittenberg R. (ed.): An inventory of alien species and their threat to biodiversity and economy in Switzerland // Délemont: CABI Bioscience Switzerland, 2005. P. 137.

14. Kuwayama S. Die Psylliden Japans // Transactions of the Sapporo Natural History Society, 1908. V. 2. P. 149-189.

15. Kwon Y.J. Psylloidea of Korea (Homoptera: Sternorrhyncha) // Insecta Koreana, 1983. Ser. 2. 181 pp. + 32 pls.

16. Lauterer P., Bartoš R., Milonas P. First records of the jumping plant-louse *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psyllidae) in Slovakia and Greece // Plant Protect. Sci., 2011. V. 47 (1). P. 37-40.

17. Malumphy Ch., Perović T., Hrnčić S. et al. First records of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) and *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae, Aphalaridae) in Montenegro // Acta entomologica serbica, 2013. V. 18 (1/2). P. 11-16.

18. Pasztor B., Redel D., Vetek G. First record of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) in Greece // Hellenic Plant Protection Journal, 2010. V. 3. P. 25-27.

19. Redel D., Penzes B. First occurence of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama, 1908) (Sternorrhyncha: Psyllidae: Acizzinae) in Hungary // Novenyvedelem, 2006. V. 42. P. 153-157.

20. Sánchez I., Burckhardt D. First record of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Psylloidea) for the Iberian peninsula // Boletin Sociedad Entomologica Aragonesa, 2009. V. 45. P. 525-526.

21. Seljak G., Šimala M., Stigter H. Three new non-European psyllids (Hemiptera, Psyllidae) in Slovenia and Croatia // In: Kerzhner I.M. (ed.): 3rd European Hemiptera Congress, St. Petersburg, June 8-11, 2004, Abstracts. Russian Academy of Sciences, St. Petersburg Scientific Centre, Zoological Institute, 2004. P. 66-67.

22. Simala M., Seljak G., Poje I., Masten T. Newly recorded psyllids (Hemiptera, Psyllidae) on woody ornamental plants in Croatia // Plant Protection, 2006. V. 6 (1). P. 16-17.

23. Ulyshen D., Miller D.R. First record of *Acizzia jamatonica* (Hemiptera: Psyllidae) in North America: friend or foe? // Florida Entomologist, 2007. V. 90. P. 573.

24. Vétek G., Babić A., Bognar-Pastor H. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera, Psyllidae) – nova štetočina albicije u Srbiji // Biljni lekar, 2009. V. 37. P. 608-613.

25. Wheeler A.G., Hoebeke E.R. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psyllidae): U.S. distribution of a recently detected Asian psyllid // Proc. Entomol. Soc. Wash., 2009. V. 111. P. 505-514.

26. Yang C.T. Psyllidae of Taiwan // Taiwan Museum Special Publication Series 1984. 3. 305.

27. Zandigiacomo P., Bernardinelli I., Stergule F. Psilla dell' albizia: prima segnalazione per l'Italia nord-orientale // Notizia / ERSA, 2002. P. 18-20.

28. Zheng H., Wu Y., Binion D. et al. Invasive plants of Asian origin established in the United States and their natural enemies // Beijing, P.R. China. ASDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team U.S.A., 2004.

29. http://www.bipmedsearch.com/article/First-record-Acizzia-jamatonica-Hemiptera/172776652.html.

30. http://eol.org/pages/3704507/overview.

Рис. 6. Листья с восковыми выделениями A. jamatonica (фото G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/464502)

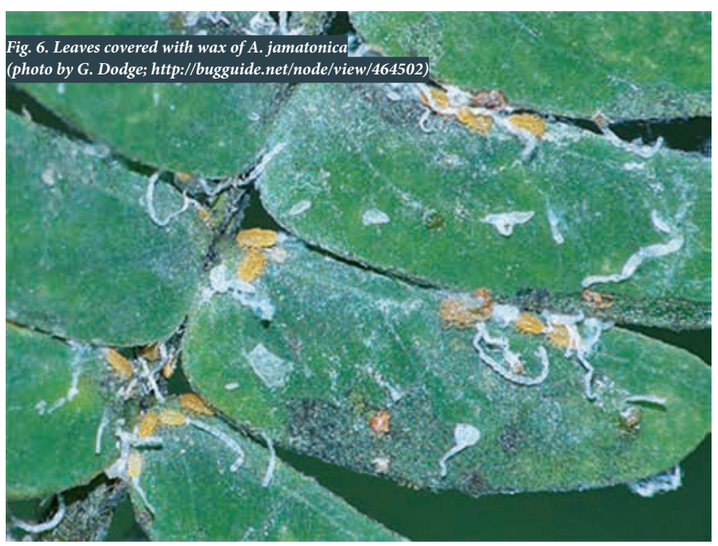


Fig. 6. Leaves covered with wax of A. jamatonica (photo by G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/464502)

UDC 632.725.6

PSYLLID *ACIZZIA JAMATONICA* KUWAYAMA, 1908 (HEMIPTERA: PSYLLIDAE: ACIZZINAE), a Dangerous Pest of Albizia from the Eastern Asia, Introduced into the Crimea and the Krasnodar Krai

A.G. Bliummer, Researcher of Voronezh Branch of FGBU "VNIIKR"

Abstract. *The present article touches upon the history of spreading of Acizzia jamatonica Kuwayama, a dangerous pest feeding on Albizia julibrissin, beyond its natural habitat and forming its secondary (invasive) area. The article includes data concerning the psyllid's spreading in Crimea and in the Krasnodar krai. The text provides characteristics of its biology, harmfulness, and chemical control measures. The work mentions the physllid's entomophags detected in its colonies on Albizia in Crimea, and suggests the perspectives of using a biomethod to control the phytophag's populations. The article suggests giving the phytophag the status of a regulated non-quarantine pest in the future.*

Keywords. *Acizzia jamatonica, Psyllidae, Acizzinae, phytophag, Albizia julibrissin, introduction, Europe, Crimea, the Krasnodar krai.*

Psyllids (Psyllidae) are a large family of hemipterous insects (Hemiptera). Their nymphs's ability to jump gave the name to the family. The world fauna of the psyllids of the suborder Sternorrhyncha, including the family Psyllidae, consists of 16 000 species (Forero, 2008). The genus *Acizzia* includes over 40 species (http://eol.org/pages/3704507/overview). They all have trophic connection with woody plants, mainly Fabaceae (Hodkinson, Hollis, 1987). A number of species of *Acizzia* are widely spread beyond their natural habitats. Apart from *Acizzia jamatonica*, these include Australian *Acizzia acaciae-baileyanae*, *A. hakae*, *A. unkatoides*, that were introduced in the North America where they naturalized easily.

Acizzia jamatonica Kuwayama is the most dangerous Albizia pest from all its phytophags. Being detected in Europe in 2004, this species was included in EPPO Alert List. Two years later it was evident that with the help of quarantine phytosanitary measures it was impossible to control its spreading on the European continent, and the species was excluded from the list.

The world fauna of the psyllids of the suborder Sternorrhyncha, including the family Psyllidae, consists of 16 000 species.

Acizzia jamatonica Kuwayama feeds on *Albizia julibrissin*, named also as silk mimosa, silk tree or Lenkoran acacia, that belongs to the genus of tropical trees and bushes of the Fabaceae family. The tree has a wide umbrella-like canopy. Its complicated leaves remind those of acacia. The tree is very ornamental, especially in bloom, when it gets covered with delicate aromatic flowers with very long stamens (Fig. 1-5). The tree is widely used in Southern Europe and in the Mediterranean area because of its ornamental characteristics, fast growth, long blooming period (June-September), resistance to bad city environment. Albizia is often encountered in ornamental planting, private and public parks and gardens. It is planted along busy highways and near parking lots as it is resistant to exhaust fumes. In hill areas affected by erosion and deflation, this tree is used for fixing slopes.

As an ornamental plant, Albizia was introduced in many countries of subtropical and tropical zones: Azerbaijan, Iran, Turkey, Central Asia (Uzbekistan), countries of East and South-East Asia (China, Japan, Taiwan), the Indian subcontinent (Bhutan, India, Nepal, Kashmir) and Burma. It grows in the USA, Argentina, Brazil, and other countries

Puc. 7. Acizzia jamatonica. Имаго (фото G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/470198)

Fig. 7. Acizzia jamatonica. Imago (photo by G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/470198)

of the South America (Zheng et al., 2004). It grows well in Crimea (Yalta, Simferopol, Sevastopol and other cities), on the Black Sea coast in Caucasus. It is especially spread in Kerch, where it can be seen in many alleys and squares.

There is also wild-growing Albizia, for instance, in Azerbaijan and in the lower belt of the Talysh Mountains (up to 200 m above the sea level).

The origin of *Acizzia jamatonica* is connected with East Asian region, homeland of its forage plant. *Acizzia jamatonica* is a small insect. The male body is 1.8-2 mm, the female body is 2-2.3 mm (Fig. 7). The body of non-wintered imagoes is yellow and green, and the body of overwintered one is reddish and brown (Karpun, Zhuravliova, 2015). The wings are pale yellow without dark patterns.

The eggs are 0.3 mm long, of oblong shape, yellow or orange. On the basal end there is an axis that is introduced in the leaf tissue and fixes the egg on the leaf. Females lay eggs on buds, the midrib, along the margin of the leaf and sometimes on under-side of the leaf.

Рис. 8. Aizzia jamatonica. Личинка, выделяющая восковую трубочку (фото G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/552616)

Fig. 8. Aizzia jamatonica. Nymph's waxy secretion (photo by G. Dodge; http://bugguide.net/node/view/552616)

The insect spread mainly through Albizia planting material, in particular, with nursery plants in containers, and probably bonsai.

There are five instars. The 1st instar nymph is light yellow, almost transparent; nymphs of the 2nd to 5th instars are yellowish green. The 5th instar nymphs have light brown setae. It has clear wing pads and limbs rudiment. Flagellums and legs are dark-brown. Eyes are pink.

Nymphs extract a large amount of sap from leaves, flowers and new pods of *Albizia julibrissin*. They produce lots of excrements (honeydew) covered with white wax.

There are usually no less than three generations a year. According to research in Croatia, Greece and Slovakia, it can give four overlapping generations (Simala et al., 2006; Lauterer et al., 2011).

In the Black Sea coast subtropical area, the overwintering generation stops the diapause at the constant average temperature of +15° C, which corresponds to a new vegetation cycle of Albizia. The last ten days of March, females of the first generation lay eggs on plant buds. Depending on the temperature, it takes two or three weeks for eggs to develop. Hatching is usually the second third of April. Nymphs undergo all five instars within 4 weeks. Imagoes of the first summer generation are active the first ten days of May. The first or second thirds of May, females lay eggs of the second generation. In August or September, there is hatching of the third generation of imagoes. In summer, all stages of the insect development can be observed simultaneously (Karpun, Zhuravliova, 2015). An insect in imago stage overwinters not on fodder plants, but on conifer trees.

Fig. 9. Aizzia jamatonica nymph producing wax (фото S. Justis; http://bugguide.net/node/view/552617)

Рис. 9. Личинка ациззии, выделяющая воск (фото S. Justis; http://bugguide.net/node/view/552617)

Before 1980, *Acizzia jamatonica* was known to be only from Japan (Kuwayama, 1908). In the 1980s, it started spreading through East Asian countries. The insect spread mainly through Albizia planting material, in particular, with nursery plants in containers, and probably bonsai. In 2003, *A. jamatonica* was detected in England on the imported large nursery plants of Albizia. In 1983, it was first detected in the Republic of Korea (Kwon, 1983), in 1984, in Taiwan (Yang, 1984), in 1992, in China (Lauterer, 2011).

The first detection of *A. jamatonica* was in the North of Italy in 2001 in Piedmont, Turin (Zandigiacomo et al., 2002; Alma et al., 2002; ERS 2002/058). Later, the insect spread around several regions of the country: Friuli-Venezia Giulia, Lombardy, Veneto, and the province of Val di'Aosta (EPPO, 2006). The insect was introduced in Southern Europe: Slovenia (Seljak, 2004), Croatia (Istria) (Simala et al., 2006), Switzerland (Ticino) (Kenis, 2005), France (Vaucluse) (Chapin, Cocquempot, 2005), Hungary (Redel, Penzes, 2006), Spain (Sánchez, Burckhardt, 2009), Bulgaria (Harizanova et al., 2012), Serbia (Vétek et al., 2009), Greece (Pasztor, 2010), Slovakia (Lauterer et al., 2011), Montenegro (Malumphy et al., 2013).

Since 2006, *Acizzia jamatonica* Kuwayama has been known in the USA (Ulyshen, Miller, 2007). Nowadays, it is detected in the states of Alabama, Florida, North and South Carolina, Tennessee, Georgia (Wheeler, Hoebeke, 2009).

In August 2011, the researchers of Crimea Agrotechnical University and I.M. Vernadskiy Tauride National University were the first to detect *Acizzia jamatonica* Kuwayama in Crimea, in Simferopol and the village Phoros (Striukova, Striukov, 2012). In 2014, *A. jamatonica* was first detected in the Black Sea coast in the Krasnodar krai (Karpun, Zhuravliova, 2015).

Acizzia jamatonica Kuwayama causes great damage to forage trees. Leaves get covered with white wax string-like and irregular-shaped secretions. Their turgor decreases, they turn yellow, wither and fall off. With a large number of insects, there is precipitated defoliation of trees. Leaves are covered with sooty mold that feeds on honeydew of nymphs and imagoes. The tree becomes black, looks burned, and loses resistance. If the psyllid population maintains within 4-5 years, the tree partly dries off and can die.

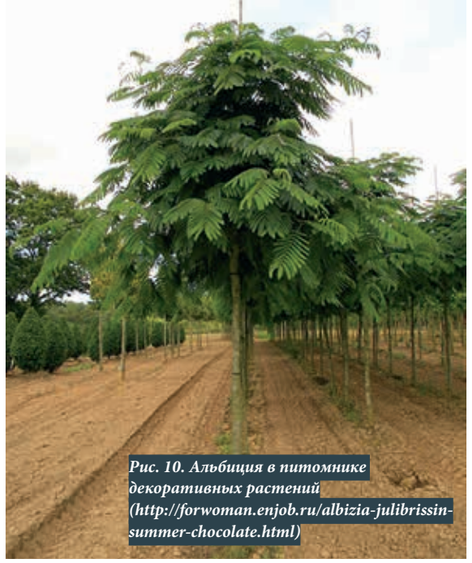


Рис. 10. Альбиция в питомнике декоративных растений (http://forwoman.enjob.ru/albizia-julibrissin-summer-chocolate.html)

Fig. 10. Albizia julibrissin in ornamental plants nursery (http://forwoman.enjob.ru/albizia-julibrissin-summer-chocolate.html)

The symptoms of Albizia damage are: decreasing of turgor and yellowing of leaves in summer time; presence on blades string-like or sometimes spiral-curled long white waxy secretions and different wax shapes. There can be more of them closer to the midrib. Changing of the canopy appearance, wax structures on leaves, early defoliation (1.5 months earlier than usually) influences negatively ornamental qualities of trees.

According to EPPO experts, *A. jamatonica* presents high pest risk for Albizia plantations in tree nurseries (ERS, 2003). Phytophagy control should be based on quarantine phytosanitary activities. It is necessary to tighten regulations for producers of large Albizia nursery plants, as well as bonsai in the countries of Europe and Asia where these psyllids live. As psyllid imago overwinters on coniferous woody plants, it is necessary to pay extra attention to planting material of coniferous trees originated from nurseries of Southern Europe and the South of the European part of Russia.

If the psyllid population maintains within 4-5 years, the tree partly dries off and can die.

The researchers of the Russian Research Institute of Floriculture and Subtropical Crops (Sochi) N.N. Karpun and E.N. Zhuravliova recommend using pesticides against *A. jamatonica* during its population increase and when there is a threat of trees' dying back (Karpun, Zhuravliova, 2015). With the pest's high population, the infested tree can be treated twice with chemicals on the base of imidacloprid (bioltin, tarek, etc); double spraying with products on the base of abamectin, lambda-cyhalothrin, thiamethoxam. Treatment products should be interchanged to avoid resistance. Considering Albizia plantations are connected with cities and other inhabited places, chemical control can be applied in a very limited way.

Biological method of population control is more prospective. There have been detected entomophagous insects, natural enemies of phytophags. These are Coccinellidae, predatory bugs – Anthocoridae, syrphid flies. In Europe the entomophagous insects attacking *A. jamatonica* have been identified and studied concerning their possible breeding and using as biological control agents, although they have not been used so far. In Bulgaria there have been detected 13 insect species feeding on *A. jamatonica* eggs and nymphs. The most important of them are ladybirds (Harizanova et al., 2012). In Crimea, in pest colonies on Albizia there have been detected seven-spotted and two-spotted ladybirds (*Coccinella septempunctata* and *Adalia bipunctata*), syrphid fly nymphs (Striukova, Striukov, 2012). On the Black Sea coast in the Krasnodar krai on infested trees there were detected Coccinellidae *C. septempunctata*, *Chilocorus nigritus*, *Rodolia cardinalis*, *Lindorus lophanthae*, *Stethorus punctillum* and predatory insects of the Anthocoridae family (Karpun, Zhuravliova, 2015).

Considering *Acizzia jamatonica* Kuwayama spreads mainly through plants for planting, this species should be recommended for including in the List of regulated non-quarantine pests of the Russian Federation.

References

1. Bliummer A.G. Some aspects of introduction in Europe and European part of Russia of insects of Asian origin – dangerous woody plants pests // VIII Readings in the memory of O.A. Katayev. Pests and diseases of woody plants in Russia. International conference materials. St. Petersburg, 18-20 November 2014. P. 5-6.

2. Karpun N.N., Zhuravliova E.N. Psyllid *Acizzia jamatonica* Kuwayama (Homoptera: Psyllidae): new Albizia phytophagy on the Black Sea coast in Caucasus // http://www.vniisybtrop.ru/novosti/465-mimoznaya-listobloshka-acizzia-jamatonica-...

3. Striukova N.M., Striukov A.A. New detection on Albizia // Materials of the XLI Ukrainian scientific conference. Tauride National University, "Zoology" section. Simferopol, 21 April 2012. P. 19-20.

4. Alma A., Tedeschi R., Rossi J. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) a new psyllid for Europe (Homoptera, Psyllidae) // Informatore Fitopatologico, 2002. V. 52 (4). P. 64-65 (in Italien).

5. Chapin E., Cocquempot C. Psylle de l'Albizia: 1 ers signalements en France // PHM-Revue Horticole, 2005. V. 467. P. 49-52.

Рис. 11. Саженцы альбиции в контейнерах (http://www.plantes-oasis.fr/photos/Albizia_julibrissin_Ombrella_04.jpg)

Fig. 11. Albizia julibrissin in pots (http://www.plantes-oasis.fr/photos/Albizia_julibrissin_Ombrella_04.jpg)

Рис. 12. Бонсай альбиции ленкоранской (http://yandex.ru/images/...albizia%20julibrissin&noreask=1&pos=260&rpt= simage&lr=10750)

Fig. 12. Albizia julibrissin bonsai (http://yandex.ru/images/...albizia%20julibrissin&noreask=1&pos=260&rpt=simage&lr=10750)

6. EPPO Reporting Service, Paris. 2002/058. *Acizzia jamatonica*: a new pest of Albizia found in Italy.

7. EPPO Reporting Service, Paris. 2003. EPPO report on notifications of non-compliance (detection of regulated pests), 175.

8. EPPO Reporting Service, Paris. 2004. First report of *Acizzia jamatonica* in France: addition to the EPPO Alert List, 153.

9. EPPO 2006. *Acizzia jamatonica* (Homoptera: Psyllidae) – a new pest of Albizia. Deletions from the EPPO Alert List: Panel review 2006-03.

10. Forero D. The systematics of the Hemiptera // Revista Colombiana de Entomología, 2008. V. 34 (1). P. 1-21.

11. Harizanova V., Stoeva A., Mohamedova M. Preliminary study on the invasive *Acizzia jamatonica* (Hemiptera: Psyllidae) and its predators in Bulgaria // Agricultural science and technology, 2012. V. 4 (1). P. 56-61.

12. Hodkinson I.D., Hollis D. The legume-feeding psyllids (Homoptera) of the West Palearctic Region // Bulletin of the British Museum (Natural History). Entomology Series, 1987. V. 6. P. 1-86.

13. Kenis M. Insects-Insecta // In: Wittenberg R. (ed.): An inventory of alien species and their threat to biodiversity and economy in Switzerland // Délemont: CABI Bioscience Switzerland, 2005. P. 137.

14. Kuwayama S. Die Psylliden Japans // Transactions of the Sapporo Natural History Society, 1908. V. 2. P. 149-189.

15. Kwon Y.J. Psylloidea of Korea (Homoptera: Sternorrhyncha) // Insecta Koreana, 1983. Ser. 2. 181 pp. + 32 pls.

16. Lauterer P., Bartoš R., Milonas P. First records of the jumping plant-louse *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psyllidae) in Slovakia and Greece // Plant Protect. Sci., 2011. V. 47 (1). P. 37-40.

17. Malumphy Ch., Perović T., Hrnčić S. et al. First records of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) and *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera, Psyllidae, Aphalaridae) in Montenegro // Acta entomologica serbica, 2013. V. 18 (1/2). P. 11-16.

18. Pasztor B., Redel D., Vetek G. First record of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Psyllidae) in Greece // Hellenic Plant Protection Journal, 2010. V. 3. P. 25-27.

19. Redel D., Penzes B. First occurence of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama, 1908) (Sternorrhyncha: Psyllidae: Acizzinae) in Hungary // Novenyvedelem, 2006. V. 42. P. 153-157.

20. Sánchez I., Burckhardt D. First record of *Acizzia jamatonica* (Kuwayama, 1908) (Hemiptera: Psylloidea) for the Iberian peninsula // Boletin Sociedad Entomologica Aragonesa, 2009. V. 45. P. 525-526.

21. Seljak G., Šimala M., Stigter H. Three new non-European psyllids (Hemiptera, Psyllidae) in Slovenia and Croatia // In: Kerzhner I.M. (ed.): 3rd European Hemiptera Congress, St. Petersburg, June 8-11, 2004, Abstracts. Russian Academy of Sciences, St. Petersburg Scientific Centre, Zoological Institute, 2004. P. 66-67.

22. Simala M., Seljak G., Poje I., Masten T. Newly recorded psyllids (Hemiptera, Psyllidae) on woody ornamental plants in Croatia // Plant Protection, 2006. V. 6 (1). P. 16-17.

23. Ulyshen D., Miller D.R. First record of *Acizzia jamatonica* (Hemiptera: Psyllidae) in North America: friend or foe? // Florida Entomologist, 2007. V. 90. P. 573.

24. Vétek G., Babić A., Bognar-Pastor H. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera, Psyllidae) – nova štetočina albicije u Srbiji // Biljni lekar, 2009. V. 37. P. 608-613.

25. Wheeler A.G., Hoebeke E.R. *Acizzia jamatonica* (Kuwayama) (Hemiptera: Sternorrhyncha: Psyllidae): U.S. distribution of a recently detected Asian psyllid // Proc. Entomol. Soc. Wash., 2009. V. 111. P. 505-514.

26. Yang C.T. Psyllidae of Taiwan // Taiwan Museum Special Publication Series 1984. 3. 305.

27. Zandigiacomo P., Bernardinelli I., Stergule F. Psilla dell' albizia: prima segnalazione per l'Italia nord-orientale // Notizia / ERSA, 2002. P. 18-20.

28. Zheng H., Wu Y., Binion D. et al. Invasive plants of Asian origin established in the United States and their natural enemies // Beijing, P.R. China. ASDA Forest Service, Forest Health Technology Enterprise Team U.S.A., 2004.

29. http://www.bipmedsearch.com/article/First-record-Acizzia-jamatonica-Hemiptera/172776652.html.

30. http://eol.org/pages/3704507/overview.

УДК 591.9

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕДИЦИЯ **В РЕСПУБЛИКУ ПЕРУ**

Я.Н. Коваленко, научный сотрудник НМО энтомологии ФГБУ «ВНИИКР»

М.Г. Коваленко, и.о. зав. лабораторией энтомологии ИЭЦ ФГБУ «ВНИИКР»

Ю.А. Ловцова, научный сотрудник НМО энтомологии ФГБУ «ВНИИКР»

Республика Перу – государство в Южной Америке, граничащее на севере с Колумбией, на северо-западе с Эквадором, на востоке с Бразилией, на юго-востоке и юге – с Боливией и Чили. Перу имеет общую площадь в 1 285 220 км² и характеризуется высоким разнообразием ландшафтов и природных зон. С запада Перу омывается водами Тихого океана, вдоль побережья которого тянется узкая полоса пустынных береговых линий (Коста), отрезанная от остальной части страны высоким горным поясом Анд (Сьерра), достигающих на территории Перу максимальной высоты в 6768 м над уровнем моря (гора Уаскаран). С восточной стороны Анд расположена Амазонская низменность, покрытая дождевыми тропическими лесами (Сельва), переходящая на юге в обширную предгорную равнину (Монтанья). Климат в Перу неоднороден – на западе пре-

Энтомофауна Перу отличается чрезвычайным разнообразием, что во многом обусловлено обилием ландшафтов и природных зон на территории страны.

Рис. 1. Участники энтомологической экспедиции в Перу (слева направо: Ю.А. Ловцова, Я.Н. Коваленко, М.Г. Коваленко)

Fig. 1. Participants of the entomologic expeditions to Peru (from left to right: Y.A. Lovtsova, Y.N. Kovalenko, M.G. Kovalenko)

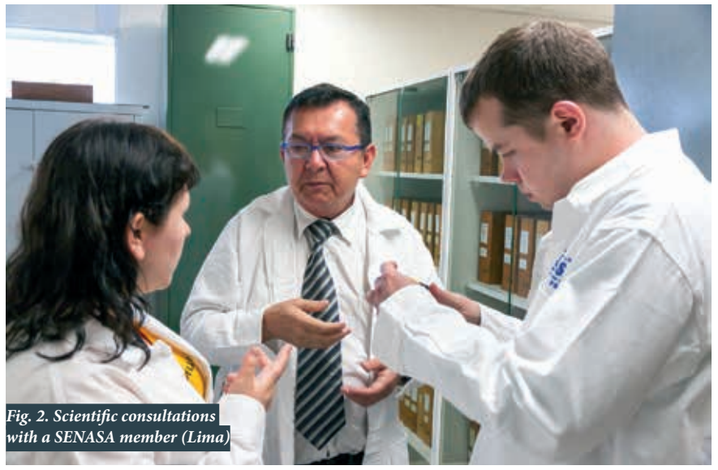


Fig. 2. Scientific consultations with a SENASA member (Lima)

Рис. 2. Научная консультация с сотрудником SENASA (Лима)

обладает тропический пустынный, на севере и северо-востоке (а также, локально, в центре страны) – экваториальный и субэкваториальный. В горах климат зависит от высоты местности – на высотах более 4000 м даже летом в ночные часы могут отмечаться заморозки.

Энтомофауна Перу отличается чрезвычайным разнообразием, что во многом обусловлено обилием ландшафтов и природных зон на территории страны. Ежегодно из Перу описывается большое количество новых таксонов насекомых.

На территории Перу отмечено множество вредителей, являющихся карантинными для Российской Федерации, поэтому основной целью энтомологической экспедиции, проходившей в период с 1 по 28 апреля 2016 года, был сбор карантинных насекомых, а также близких к ним видов. В состав экспедиционной группы входили авторы настоящей статьи (рис. 1).

Первый этап экспедиции прошел в Лиме, столице страны, и был посвящен обмену опытом с коллегами из Национального аграрного университета Перу (Universidad Nacional Agraria La Molina), Международного картофельного центра (International Potato Center) и SENASA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria Peru) (рис. 2) – национальной службы Республики Перу, одной из сфер деятельности которой является надзор за соблюдением национального законодательства в области карантина растений. Особо хотелось бы отметить плодотворную встречу с сотрудником Международного картофельного центра Хесусом Алькасаром (Jesus Alcazar) (рис. 3), являющимся крупнейшим специалистом по андийским картофельным долгоносикам рода *Premnotrypes*. Следует отметить, что во время работы сотрудников ФГБУ «ВНИИКР» с энтомологическими коллекциями Национального аграрного университета Перу и SENASA производился обмен материалом с перуанской стороной, в результате которого авторами статьи были получены коллекционные образцы некоторых карантинных для РФ вредителей и близких к ним видов, ранее отсутствовавших в энтомологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР».

Дальнейшие этапы экспедиции включали поездку по следующему маршруту: Лима – Кокачакра – Тиклио – Тарма – Сатипо – Сан-Антонио – Сатипо – Тарма – Тиклио – Кокачакра – Лима. Во многих точках указанного маршрута специалистами ФГБУ «ВНИИКР» производился активный сбор насекомых, а также других вредных организмов. Пункты сбора материала включали встречавшиеся по пути агроценозы (поля, сады, личные подсобные хозяйства) (рис. 4), а также их окрестности (известно, что многие вредители, например, андийские картофельные долгоносики *Premnotrypes* spp., концентрируются обычно по окраинам полей) и естественные биотопы (рис. 5). Методы сбора включали энтомологическое кошение и ручной сбор насекомых с повреждаемых растений, просеивание заселенных субстратов через энтомологическое сито (сифтер), лов с привлечением насекомых на искусственный источник света, а также лов с использованием оконных и феромонных ловушек различных модификаций (рис. 6). Материал фиксировался в 70% этаноле (в основном преимагинальные стадии развития насекомых, а также материал, предназначенный для молекулярно-генетических исследований); кроме того, часть материала была разложена на энтомологические ватные матрасики. Мелкие чешуекрылые монтировались на специальных полевых расправилках непосредственно на месте их сбора (рис. 7).

Последний день экспедиции был посвящен знакомству с фабрикой по массовому разведению стерильных самцов C. capitata для регулирования численности вредителя в природных популяциях.

Рис. 3. Участники энтомологической экспедиции с Хесусом Алькасаром (International Potato Center)

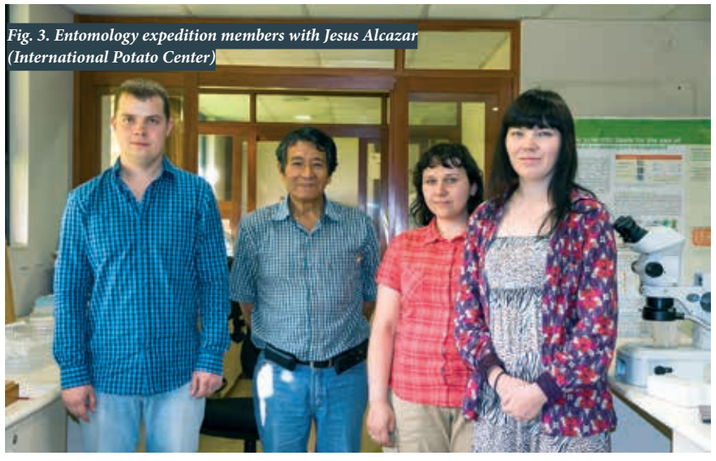


Fig. 3. Entomology expedition members with Jesus Alcazar (International Potato Center)

Fig. 4. Field survey in the Andes (Tarma outskirts)

Рис. 4. Обследование полей в Андах (окрестности города Тарма)

Последний день экспедиции был посвящен знакомству с фабрикой по массовому разведению стерильных самцов *C. capitata* для регулирования численности вредителя в природных популяциях (рис. 8). Объемы производства фабрики составляют около 17 миллионов стерильных самцов *C. capitata* в неделю.

В результате экспедиции энтомологическая коллекция ФГБУ «ВНИИКР» пополнилась следующими объектами, ранее в ней отсутствовавшими: андийские картофельные долгоносики (5 видов рода *Premnotrypes*) (рис. 9), капюшонник многоядный (*Dinoderus bifoveolatus*), банановая моль (*Opogona sacchari*), кукурузная лиственная совка (*Spodoptera frugiperda*) (рис. 10), южная совка (*Spodoptera eridania*), черная цитрусовая белокрылка (*Aleurocanthus woglumi*). Также в ходе обмена материалом с сотрудниками SENASA был получен вредитель, отсутствующий в Перу и собранный на территории соседнего Эквадора, – гватемальская картофельная моль (*Tecia solanivora*). Кроме того, были получены материалы по некоторым карантинным объектам, уже представленным в энтомологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР» – к ним относятся картофельная

Рис. 5. Сельва в окрестностях Сан-Антонио

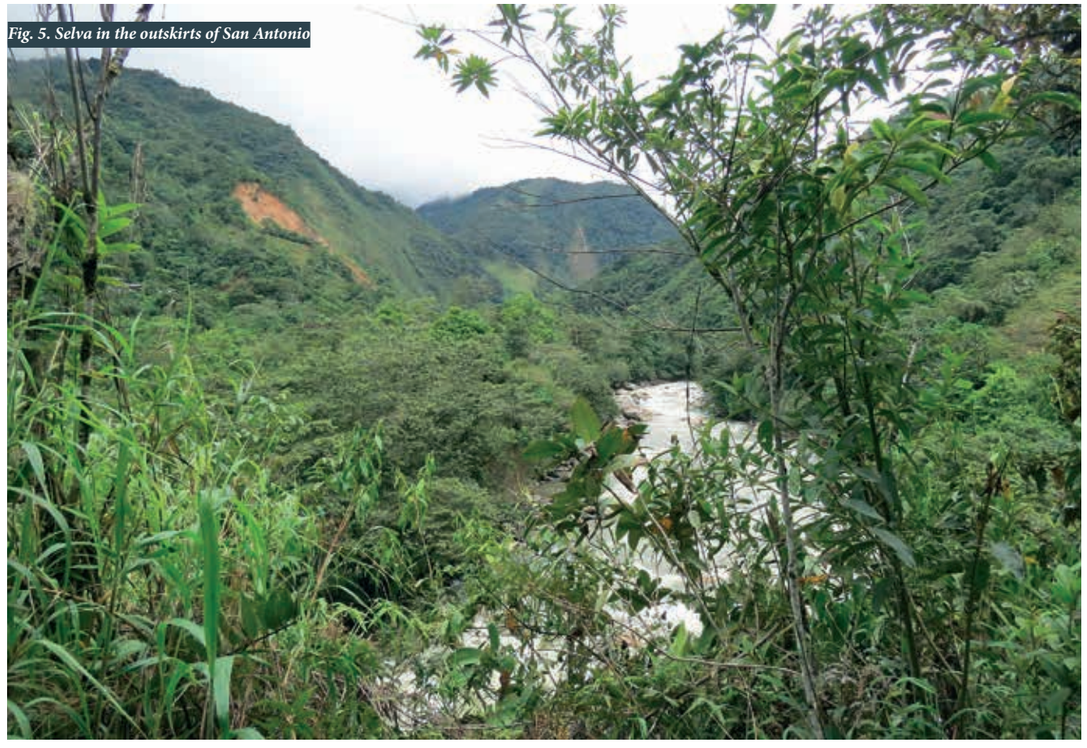


Fig. 5. Selva in the outskirts of San Antonio

моль (*Phthorimaea operculella*) и южноамериканский листовой минер (*Liriomyza huidobrensis*) (особи из первичного ареала), а также средиземноморская плодовая муха (*Ceratitis capitata*) и четырехпятнистая зерновка (*Callosobruchus maculatus*).

Помимо насекомых-вредителей, имеющих карантинное значение для Российской Федерации, в ходе экспедиции был собран богатый энтомологический материал, включающий насекомых, не имеющих карантинного значения для России, но систематически и морфологически близких к ним. Ниже приводится часть полученных в ходе обмена и сбора материалов, в настоящее время депонированных в энтомологической коллекции ФГБУ «ВНИИКР»; некоторые из этих видов входят в карантинные перечни других государств.

В ходе обмена материалом с сотрудниками SENASA был получен вредитель, отсутствующий в Перу и собранный на территории соседнего Эквадора, – гватемальская картофельная моль (Tecia solanivora).

Значительный научный интерес представляют жуки-зерновки (Chrysomelidae: Bruchinae), например, *Scutubruchus ceratioborus* – вредитель семян дерева *Prosopis alba*, используемого в озеленении городов в условиях теплого и засушливого климата, а также *Caryedes braziliensis* – вредитель семян древовидной лианы диоклеи крупноплодной (*Dioclea megacarpa*).

Не менее интересны, в том числе с фитосанитарной точки зрения, и жуки-долгоносики: к ним относится, например, *Rhigopsidius piercei* (Curculionidae) (рис. 11) – злостный вредитель картофеля, включаемый ведущими зарубежными исследователями в так называемый «комплекс андийских картофельных долгоносиков (Andean Potato Weevil Complex)» наряду с видами рода *Premnotrypes*.

Еще одним долгоносиком, полученным в ходе обмена, является *Anthonomus grandis* (Curculionidae) – хлопковый долгоносик, считающийся серьезнейшим вредителем хлопка, распространенным в Южной, Центральной и Северной Америке. Этот вид причинял огромный вред посевам хлопка в США в конце XIX – начале XX вв., что неоднократно приводило к масштабным экономическим спадам, поскольку в то время хлопок являлся основной сельскохозяйственной культурой для южных штатов США; сейчас в результате специальных мер, сдерживающих численность вредителя (включающих химические и биологические методы борьбы), экономическая значимость хлопкового долгоносика резко снизилась. Этот вид является карантинным объектом для многих стран Старого Света, где развито хлопководство.

В соответствии с современными представлениями, к долгоносикам относится также *Pagiocerus frontalis* (Curculionidae: Scolytinae) – ед-полифаг, вредящий различным культурным растениям, а также продуктам запасов растительного происхождения. В условиях высокогорий Анд он является основным вредителем кукурузы, как в агроценозах (атакует зрелые семена кукурузы в початках), так и при хранении собранного урожая. Из Южной Америки *P. frontalis* проник в Центральную Америку и Мексику и к настоящему времени в северном направлении расселился до южных штатов США. Является карантинным объектом для Японии и Новой Зеландии.

Кроме долгоносиков, относимых к семейству Curculionidae, в ходе обмена и сбора были получены материалы по видам семейства Dryophthoridae, относимого некоторыми авторами, в ранге подсемейства, к семейству Curculionidae. Одним из подобных объектов является *Cosmopolites sordidus* – вредитель многих культивируемых видов рода банан (*Musa*), являющийся карантинным объектом для Израиля и Ирана. В литературе имеются сведения о проявлении данным видом вредоносности по отношению к сахарному тростнику и ямсу. Еще один представитель семейства Dryophthoridae, пополнивший энтомологическую коллекцию ФГБУ «ВНИИКР», – *Metamasius hemipterus* – вредитель множества культурных растений, выращиваемых преимущественно в условиях тропического пояса, где он распространен почти всесветно. Серьезный ущерб способен причинять сахарному тростнику, вредит также бананам, некоторым культурным бромелиевым (включая ананас), орхидным, некоторым пальмам и т.д. Вид входит в Сигнальный перечень ЕОКЗР и является карантинным объектом для ряда стран.

Из некарантинных насекомых – представителей других отрядов хотелось бы отметить бабочку *Eurysacca quinoae* (Gelechiidae), являющуюся специфическим вредителем культуры киноа – растения, традиционно употребляемого в пищу населением высокогорных Анд. Учитывая, что в настоящее время киноа выращивается не только в Андах, но и в других регионах (включая некоторые, преимущественно высокогорные, районы Евразии), получение коллекцией ФГБУ «ВНИИКР» материалов по специфическому вредителю данной культуры представляется актуальным.

Кроме того, участниками экспедиции были собраны булавоусые чешуекрылые, имеющие эффектный внешний вид и представляющие интерес для оформления экспозиции энтомологического музея ФГБУ «ВНИИКР». К ним относятся такие виды, как морфо менелай (*Morpho menelaus*), бабочка «89» (*Diaethria neglecta*) (рис. 12), прозрачный сатир *Cithaerias pireta* (рис. 13), геликонида *Altinote alcione* (рис. 14), риодинида *Styx infernalis*, южный монарх (*Danaus erippus*) и многие другие.

Помимо насекомых, по всему маршруту движения исследовательской группы в Республике Перу собирались также сорные растения (преимущественно их семена, сборы производились в агроценозах и в рудеральных сообществах населенных пунктов Перу). Все ботанические материалы были переданы специалистам-гербологам ФГБУ «ВНИИКР». Предварительные результаты изучения привезенных гербологических материалов свидетельствуют о том, что на исследование поступили семена и плоды карантинных и морфологически схожих с ними видов сорных растений, принадлежащих к родам *Bidens* (череда) (рис. 15), *Ipomoea* (ипомея) (рис. 16), *Cenchrus* (ценхрус). Значительную ценность представляют образцы, принадлежащие к таксону череда волосистая (*Bidens pilosa* L.), которые будут использованы при подготовке плановых научных работ.

В заключение хотелось бы отметить, что материалы, привезенные из Республики Перу специалистами ФГБУ «ВНИИКР», используются при обучении специалистов в области карантина растений, валидации существующих методических рекомендаций, разработке молекулярно-генетических методов идентификации карантинных объектов и выполнении научно-исследовательских работ, а также позволят в дальнейшем провести межлабораторные сличительные испытания (МСИ) по ряду новых карантинных объектов.

Авторы настоящей статьи выражают глубокую признательность начальнику НМО энтомологии С.А. Курбатову, а также начальнику отдела по взаимодействию с Россельхознадзором В.А. Яковлевой, без деятельного участия которых не состоялась бы обсуждаемая экспедиция.

Fig. 6. Placing a pheromone trap in the selva (San Antonio outskirts)

Рис. 6. Установка феромонной ловушки в сельве (окрестности Сан-Антонио)

Рис. 7. Расправление мелких чешуекрылых (Lepidoptera) на месте сбора

Fig. 7. Spreading of small lepidopterous insects (Lepidoptera) at the place of collection

Fig. 8. At the breeding facility of sterile males of Mediterranean fruit fly (Ceratitis capitata)

Рис. 8. На фабрике по разведению стерильных самцов средиземноморской плодовой мухи (Ceratitis capitata)

UDC 591.9

ENTOMOLOGIC EXPEDITION **TO THE REPUBLIC OF PERU**

Y.N. Kovalenko, Researcher of Scientific and Methodological Department of FGBU "VNIIKR"

M.G. Kovalenko, Acting Head of the Entomology Laboratory of Expert Test Center of FGBU "VNIIKR"

Y.A. Lovtsova, Researcher of Scientific and Methodological Department of FGBU "VNIIKR"

The Republic of Peru is a state in South America bordering Columbia in the north, Ecuador in the northwest, Brazil in the east and Bolivia and Chili in the southeast and in the south. With a total area of 1 285 220 km^2 Peru features highly diverse landscapes and natural zones. Peru borders the Pacific Ocean in the west, its coast being lined out by the strip of deserted coastlines (Costa), which are cut off from the rest of the country by the Andes mountain belt (Sierra) with the maximum height of 6 768 meters above the sea level (Huascaran mountain) on the territory of Peru.

The entomologic fauna of Peru is highly diverse which stems to a great extent from the abundance of landscapes and natural zones in the country.

The Amazon lowlands in the east of the Andes are covered by tropical rain forests (Selva) verging into vast piedmont plain (Montanja) in the south. The Peruvian climate is variegated with prevailing tropical deserts in the west and equatorial and subequatorial environment in the northeast (and in the centre of the country in some places). In the mountains the climate depends on the terrain elevation – at the height of 4 000 meters the terrain may be touched by frost at night even in the summer.

The entomologic fauna of Peru is highly diverse which stems to a great extent from the abundance of landscapes and natural zones in the country. A large number of new insect taxonomic units are described annually in Peru.

Many pests which have quarantine status in the Russian Federation are registered in Peru, therefore the entomologic expedition, which took place from 1st to 28th April, 2016, was overarchingly aimed at sampling of quarantine insects and species closely related to them. The authors of this article were members of the expedition (Fig. 1).

The expedition's first stage in the capital of the country Lima was dedicated to sharing experiences with colleagues from National Agricultural University of Peru (Universidad Nacional Agraria La Molina), the International Potato Center and SESANA (Servicio Nacional de Sanidad Agraria Peru) (Fig. 2) which is the national service of Peru dealing with statutory compliance in plant quarantine among other things. The meeting with Jesus Alcazar, staff member of the International Potato Center and major expert in Andean potato weevil of *Premnotrypes* genus, should specifically be mentioned (Fig. 3). It is notable that the staff members of FGBU "VNIIKR" shared materials with the Peruvian party when working with entomologic collections of National Agricultural University of Peru and SENASA. As the result the authors of the article obtained some pests with quarantine status in the Russian Federation and species closely related to them which the entomologic collection of FGBU "VNIIKR" had previously lacked.

Fig. 9. Imago of Andean potato weevil (Premnotrypes solanivorax)

Рис. 9. Имаго андийского картофельного долгоносика Premnotrypes solanivorax

Рис. 10. Гусеница кукурузной лиственной совки (Spodoptera frugiperda)

Fig. 10. Caterpillar of grass worm (Spodoptera frugiperda)

Fig. 11. Imago of weevil Rhigopsidius piercei

Рис. 11. Имаго долгоносика Rhigopsidius piercei

Further stages of the expedition involved a trip along the following route: Lima – Cocachacra – Ticlio – Tarma – Satipo – San Antonio – Satipo – Tarma – Ticlio – Cocachacra – Lima. The experts of FGBU "VNIIKR" conducted extensive sampling of insect and other pest materials in the greater part of the specified route points which also comprised agrocenoses in the way (fields, gardens, personal subsidiary plots) (Fig. 4), the surroundings (it is common knowledge that many pests, the Andean potato weevil *Premnotrypes* spp. for example, concentrate along the field outskirts) and natural biotops (Fig. 5). The sampling approaches involved entomologic mowing and manual insect sampling from damaged plants, sieving of inhabited substrates through entomologic sieve (sifter), catching with attraction of insects to artificial light source, and also catching by means of window and pheromone traps of different varieties (Fig. 6). The materials were fixed in 70% ethanol (preimaginal insect development stages mainly and also the materials for molecular and genetic research), moreover part of it was laid out on cotton entomologic mattresses. Small lepidopterous insects were placed onto

Рис. 12. Бабочка «89» (Diaethria neglecta)

Fig. 12. 89 butterfly (Diaethria neglecta)

special field spreading boards directly at the place of their sampling (Fig. 7).

The last day of the expedition was dedicated to the tour at the breeding facility of *C. capitata* sterile males used for regulation of pest quantity in natural populations (Fig. 8). The facility produces about 17 million *C. capitata* sterile males per week.

As the result the following previously absent collectibles enriched the entomologic collection of FGBU "VNIIKR": Andean potato weevils (5 species of *Premnotrypes* genus) (Fig. 9), *Dinoderus bifoveolatus*, banana moth (*Opogona sacchari*), grass worm (*Spodoptera frugiperda*) (Fig. 10), semitropical armyworm (*Spodoptera eridania*), and blue grey fly (*Aleurocanthus woglumi*). Guatemalan potato moth (*Tecia solanivora*), a pest which is absent in Peru and collected on the territory of Ecuador, was also collected during sharing of materials with SENASA staff. Furthermore, the following quarantine object materials that are already present in the entomologic collection of FGBU "VNIIKR" were obtained, namely: potato moth (*Phthorimaea operculella*), pea leaf miner (*Liriomyza huidobrensis*) (specimens from the primary areal), Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*), and four-spotted bean weevil (*Callosobruchus maculatus*).

Besides insect pests with quarantine importance to Russian Federation, the expedition collected vast entomologic materials, including insects which do not have quarantine status in Russia, but are closely related to quarantine ones systematically and morphologically. Some of the materials obtained during their sharing and collection are specified below and are placed to the entomologic collection of FGBU "VNIIKR" at present. Some of these species are in the quarantine lists of other states.

Some species are of significant scientific interest: bruchids (Chrysomelidae: Bruchinae), for example *Scutubruchus ceratioborus* which is a pest of *Prosopis alba* tree seeds, used for planting in the cities under warm and arid climate conditions, and *Caryedes braziliensis* which is a pest of *Dioclea megacarpa* seeds.

Weevils are of no less importance in terms of phytosanitary: here belong

Fig. 13. M.G. Kovalenko with caught blushing phantom Cithaerias pireta

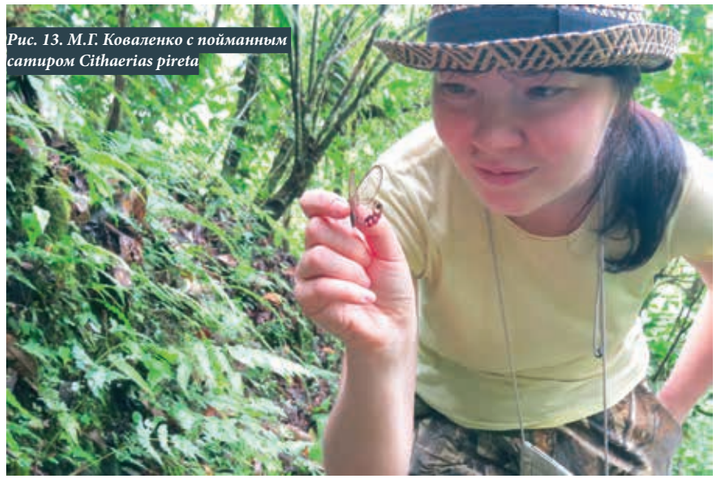


Рис. 13. М.Г. Коваленко с пойманным сатиром Cithaerias pireta

Рис. 14. Геликонида Altinote alcione

Fig. 14. Julia butterfly Altinote alcione

Rhigopsidius piercei (Curculionidae) (Fig. 11) – a harmful potato pest, included in the so called Andean Potato Weevil Complex along with the species of *Ptremnotrypes* genus by the major foreign researchers.

Anthonomus grandis (Curculionidae) is a boll weevil found during the material sharing being the most harmful pest of cotton in South, Central and North America. This species caused huge damage to cotton crops in the USA in the end of XIX – beginning XX century, which repeatedly made for extensive economic downfall, because cotton was the major agricultural crop for southern states of the USA at that moment. Nowadays special measures of pest containment (including chemical and biologic control methods) ensure rapid reduction of economic importance of the weevil population. This species is a quarantine object for many Old World countries, where cotton growing is strong.

Following modern concepts *Pagiocerus frontalis* (Curculionidae: Scolytinae) which is a polyphagous bark beetle damaging crop plants and plant stock also pertain to the weevils. Under high mountain conditions of the Andes it is the most harmful pest of maize in agrocenoses (attacks mature maize seeds in corncobs) as well as during storage of harvested crops. *P. frontalis* was introduced to Central America and Mexico via South America and by now has spread in the north direction up to US southern states. This species is a quarantine object for Japan and New Zealand.

Besides weevils belonging to Curculionidae family the expedition participants obtained some materials on the species of Dryophthoridae family which several authors refer to Curculionidae family within subfamily rank. One of these species is *Cosmopolites sordidus*,

Fig. 15. Bur-marigold plants (Bidens sp.) (Tarma outskirts)

Рис. 15. Растения череды (Bidens sp.) (окрестности города Тарма)

The last day of the expedition was dedicated to the tour at the breeding facility of C. capitata sterile males used for regulation of pest quantity in natural populations.

Рис. 16. Ипомея каирская (Ipomoea cairica) в Лиме

Fig. 16. Five-fingered morning glory (Ipomoea cairica) in Lima

the pest of many cultivated species of banana (*Musa*) genus and a quarantine object in Israel and Iran. There are several records in the literature that this species is harmful for sugar cane and yam. *Metamasius hemipterus* is another representative of Dryophthoridae family having enriched the collection of FGBU "VNIIKR". It is a pest of manifold of plants mainly grown under tropical conditions where it is spread almost worldwide and causes severe damage to sugar cane, banana, some species of bromeliads (including pineapple), orchids, and some palms etc. The species is on the EPPO Alert List being a quarantine object in a number of countries.

Moth *Eurysacca quinoae* (Gelechiidae) representing other orders and being a non-quarantine insect should also be mentioned. It is a specific pest of quinoa which is a traditional food for the population of the mountainous Andes. Taking into account that nowadays quinoa is grown in the Andes as well as in other regions (including some Eurasian regions which are high-mountain on a large scale) it is pertinent that the collection of FGBU "VNIIKR" became enriched by the materials of such a specific pest of this crop.

Moreover, the expedition members collected many butterfly species (Rhopalocera), possessing eye-catching appearance and being of interest for exposition décor of FGBU "VNIIKR" entomologic museum. Here belong such species as Menelaus blue morpho (*Morpho menelaus*), 89 butterfly (*Diaethria neglecta*) (Fig. 12), blushing phantom (*Cithaerias pireta*) (Fig. 13), Julia butterfly (*Altinote alcione*) (Fig. 14), *Styx infernalis*, southern monarch (*Danaus erippus*) and many others.

Guatemalan potato moth (Tecia solanivora), a pest which is absent in Peru and collected on the territory of Ecuador, was also collected during sharing of materials with SENASA staff.

Apart from insects the research group also gathered weed plants along the whole route in Peru (primarily seeds, which were gathered in agrocenoses and in ruderal sites of Peruvian residential areas). All the botanic materials were handed over to herbology experts of FGBU "VNIIKR". Preliminary examination results of the acquired herbology materials show that seeds and fruits of quarantine and morphologically similar weed plants of *Bidens* genus (bur-marigold) (Fig. 15), *Ipomoea* (morning glory) (Fig. 16), *Cenchrus* (sandbur) were received for research.

Samples belonging to taxon (*Bidens pilosa* L.), which will be used in preparation for scheduled scientific activity, are of significant importance. In conclusion it should be mentioned that materials brought by the experts of FGBU "VNIIKR" from the Peruvian Republic are used for expert training in plant quarantine, for validation of current methodological recommendations, development of molecular and genetic approaches for quarantine object identification and scientific works, and will also allow to conduct interlaboratory compartment tests (ICT) on a number of new quarantine objects.

The authors of this article express profound gratitude to S.A. Kurbatov, Head of Scientific and Methodological Department, and also to V.A. Yakovleva, Head of Rosselkhoznadzor Collaboration Department, for it is due to their active participation that the expedition under discussion took place.

УДК 632.6.04+58.073

БАКТЕРИИ, СВЯЗАННЫЕ С НЕМАТОДАМИ-КСИЛОФАГАМИ РОДА *BURSAPHELENCHUS*,

как возможные возбудители вилта хвойных пород

О.А. Кулинич*/**, Н.В. Дренова*, Е.Н. Арбузова*,

Н.И. Козырева**, Е.С. Мазурин*

** ФГБУ «ВНИИКР»*

*** Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Центр паразитологии*

Аннотация. *Из 25 изолятов нематод Bursaphelenchus mucronatus из различных регионов РФ выделено и идентифицировано методом прямого секвенирования гена 16S rRNA 20 видов бактерий, относящихся к 13 родам. Наиболее часто встречались бактерии рода Pseudomonas (96%), далее Stenotrophomonas (64%), Pantoea (28%), Bacillus (8%), Burkholderia (4%), Serratia (4%). Встречаемость бактерий Pseudomonas brenneri и P. fluorescens составляла соответственно 52% и 36%. Также исследована бактериальная биота двух португальских изолятов и одного американского изолята нематод B. xylophilus. При этом выделены 10 видов бактерий-симбионтов: Agrobacterium tumefaciens, Pseudomonas fluorescens, P. brenneri, Rahnella aquatilis, Stenotrophomonas maltophilia, S. rhizophila, Yersinia mollaretii. Изучение патогенности указанных видов бактерий по реакции сверхчувствительности, проведенной на табаке (Nicotiana tabacum L.), показало, что патогенность зависит от штамма бактерий. Среди 50 штаммов, относящихся к 16 видам бактерий, некрозы отмечены только для Pseudomonas brenneri и P. fluorescens. При этом патогенный штамм P. fluorescens был выделен из нематоды B. xylophilus, а два штамма Pseudomonas brenneri и P. fluorescens – с российских изолятов B. mucronatus. Из 25 российских изолятов нематод B. mucronatus только два содержали штаммы бактерий (Pseudomonas brenneri и P. fluorescens), которые вызывали некрозы.*

Ключевые слова. *Вилт хвойных пород, нематоды, бактерии-симбионты, фитопатогены, Bursaphelenchus mucronatus, Bursaphelenchus xylophilus.*

Введение

«Вилт хвойных пород», возбудителем которого является сосновая стволовая нематода *Bursaphelenchus xylophilus*, относится к числу наиболее экономически значимых заболеваний хвойных пород в мире (Mota, Vieira, 2008; Soliman et al., 2012; Futai, 2013). Большинство стран мира, включая Россию, внесли вид *B. xylophilus* в перечни карантинных организмов. Патоген широко распространен в Северной Америке, однако не вызывает там эпифитотии, т.к. местные породы хвойных устойчивы к этому патогену. Полагают, что в начале XX в. этот вид нематоды был занесен в Азию. В настоящее время *B. xylophilus* широко распространен в Японии, Китае, Республике Корея и в 1999 г. этот вид был выявлен в Португалии (Mota et al., 1999). Считается, что нематода была занесена с упаковочными древесными материалами и стала интенсивно распространяться с помощью усачей-переносчиков *Monochamus galloprovincialis*. В 2008 г. патоген был зарегистрирован уже в Испании (Abelleira et al., 2011). Сосновая стволовая нематода *B. xylophilus* считается видом, официально отсутствующим на территории РФ, но при этом в России (как и в соседних странах) широко распространен близкородственный вид *B. mucronatus* (Кули-

«Вилт хвойных пород», возбудителем которого является сосновая стволовая нематода Bursaphelenchus xylophilus, относится к числу наиболее экономически значимых заболеваний хвойных пород в мире.

нич и др., 2010). Древесная хвойная нематода *B. mucronatus* считается непатогенным или слабопатогенным видом, однако в результате наблюдений и опытов показано, что некоторые изоляты этого вида могут вызывать гибель хвойных пород (Mamiya, 1999; Zhang, Lin, 2004; Kulinich et al., 2010; Akbulut et al., 2015). Жизненные циклы *B. xylophilus* и *B. mucronatus* схожи и тесно связаны с насекомыми (усачами рода *Monochamus*), которые переносят нематод с одного дерева на другое.

Изучение этиологии заболевания «вилт хвойных пород» в последние годы позволило сделать предположение, что болезнь вызывается не одним организмом – нематодой, а комплексом патогенов: нематодой *B. xylophilus* и связанными с ней бактериями-симбионтами, продуцирующими фитотоксины, которые являются основным фактором, вызывающим гибель хвойных деревьев (Cao et al., 1997; Han et al., 2003; Zhao, Lin, 2005).

Недавние исследования показали, что нематоды и переносящиеся ими бактерии находятся в симбиотических отношениях (Zhao, 2008; Zhao et al., 2009; Kwon et al., 2010; Proenca et al., 2010; Vicente et al., 2011, 2013). Если одна из главных причин проявления «вилта хвойных пород» – наличие у нематод фитопатогенных бактерий, выделяющих фитотоксины, то было бы целесообразно изучить бактериальную биоту близкородственного вида *B. mucronatus*.

В результате изучения 25 географических изолятов нематод *B. mucronatus* из различных районов РФ выделено и идентифицировано методом прямого секвенирования гена *16S* rRNA 20 видов бактерий, относящихся к 13 родам (рис. 1).

Наиболее часто встречались на нематодах *B. mucronatus* бактерии рода *Pseudomonas* (96%), далее *Stenotrophomonas* (64%), *Pantoea* (28%), *Bacillus* (8%), *Burkholderia* (4%), *Serratia* (4%). Встречаемость бактерий *Pseudomonas brenneri* и *P. fluorescens* составляла соответственно 52% и 36%. Бактерии *Pseudomonas brenneri* и *P. fluorescens* также обнаружены в личинках нематод (L_{IV}), выделенных из жука *Monochamus urussovi*. Исследованы также два изолята нематод *B. xylophilus* из Португалии и один из США, из которых

Патогенность бактерий, выделенных из древесных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* и *B. mucronatus*, основанная на реакции сверхчувствительности на табаке

Вид бактерии	Название штамма	Изолят нематоды	Происхождение нематоды	РСЧ на табаке
Bursaphelenchus mucronatus				
Pseudomonas fluorescens	Pf-M 157	169Б	Хабаровский край	-
	Pf-M 152	56А	Забайкальский край	-
	Pf-M 150	56А	Забайкальский край	-
	Pf-M 146	49В	Забайкальский край	-
	Pf-M 139	91В	Хабаровский край	-
	Pf-M 134	73А	Забайкальский край	-
	Pf-M 118	84А	Приморский край	+
	Pf-M 114	А7	Алтайский край	-
	Pf-M 105	10Б	Пермский край	-
	Pf-M 91	80А	Приморский край	-
	Pf-M 92	80А	Приморский край	-
	Pf-M 70	46	Хабаровский край	-
Pseudomonas brenneri	Pb-M 73	185	Красноярский край	-
	Pb-M 75	10Б	Пермский край	-
	Pb-M 98	78Б	Иркутская область	+
Pseudomonas sp.	Psp-M 88	80А	Приморский край	-
	Psp-M 106	2-5-1-1	Красноярский край	-
Stenotrophomonas rhisophilla	Sr-M 70	46	Хабаровский край	-
	Sr-M 77	32А	Забайкальский край	-
	Sr-M 120	84А	Приморский край	-
	Sr-M 121	Жук	Воронежская область	-
	Sr-M 122	Жук	Воронежская область	-*
	Sr-M 123	Жук	Воронежская область	-*
Stenotrophomonas maltophilia	Sm-M 77	32А	Забайкальский край	-
	Sm-M 79	53А	Хабаровский край	-
	Sm-M 115	А7	Алтайский край	-*
	Sm-M 118	84А	Приморский край	-
Pantoea agglomerans	Pa-M 110	А7	Алтайский край	-
	Pa-M 150	56А	Забайкальский край	-

выделены 10 видов бактерий-симбионтов, в том числе *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. brenneri*, *Rahnella aquatilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *S. rhizophila*, *Yersinia mollaretii* (Arbuzova et al., 2016). Дальнейшей задачей наших исследований было изучение патогенности штаммов бактерий, выделенных из нематод *Bursaphelenchus mucronatus* и *B. xylophilus*.

Материалы и методы

Подготовка штаммов бактерий к тестированию. Проведены две серии опытов по изучению фитопатогенности штаммов бактерий, изолированных из древесных нематод *Bursaphelenchus mucronatus* и *B. xylophilus*. В опытах использовали растения табака (*Nicotiana tabacum* L.), на которых определяли реакцию сверхчувствительности при инокуляции их различными штаммами бактерий.

Из коллекции бактериальных штаммов, изолированных из нематод и идентифицированных методом прямого секвенирования гена *16S* rRNA с универсальными праймерами 8UA/519B и хранившихся при -70 °С в 15% растворе глицерина, отобраны 50 штаммов бактерий, отнесенных к 9 родам и 16 видам (см. таблицу). Данные штаммы включали 24 штамма бактерий, относящихся к роду *Pseudomonas*, как наиболее многочисленному роду бактерий, встречающемуся на данных видах нематод. Штаммы бактерий были посеяны на пептонно-дрожжевой глюкозный агар (YPGA) и инкубировались при 27 °С.

Патогенность бактерий, выделенных из древесных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* и *B. mucronatus*, основанная на реакции сверхчувствительности на табаке

Вид бактерии	Название штамма	Изолят нематоды	Происхождение нематоды	РСЧ на табаке
Pantoea ananatis	Pan-M 152	49В	Забайкальский край	-*
Pantoea sp.	Psp-M 115	А7	Алтайский край	-*
	Psp-M 121	Жук	Воронежская область	-
	Psp-M 122	Жук	Воронежская область	-*
	Psp-M 125	32А	Забайкальский край	-
	Psp-M 127	А1	Алтайский край	-
	Psp-M 131	203А	Хабаровский край	-
	Psp-M134	73А	Забайкальский край	-
	M 138	91В	Хабаровский край	-
Flavobacterium sp.	Fsp-M 81	53А	Хабаровский край	-
Achromobacter xylosoxidans	Ax-M 118	84А	Приморский край	-
Agrobacterium sp.	Asp-M 121	Жук	Воронежская область	-
Unknown species	M 114	А7	Алтайский край	-*
	M 139	91В	Хабаровский край	-*
Bursaphelenchus xylophilus				
Agrobacterium tumefaciens	X 11	BxPo	Португалия	-
Pseudomonas fluorescens	X 74	US	США	-
	X 76	US	США	-
	X 46	BxPo	Португалия	-
Pseudomonas sp.	X 61	US	США	+
	Pf-X 65	US	США	+
	X 71´	US	США	-*
	X 69	US	США	-
Контроли				
K+ (*Xylophilus ampelinus*)	(штамм 0050)			+
K+ (*Erwinia amylovora*)	CFBP 1430	-	Франция	+
K-				-

«+» – некроз; «-» – отсутствие некроза; «-*» – неспецифическая реакция (хлороз).

Изучение фитопатогенности штаммов. Для заражения использованы суспензии суточных культур в фосфатном буфере в концентрации 10^8 КОЕ/мл. Инокуляцию листьев табака *Nicotiana tabacum* L. бактериальной суспензией каждого штамма проводили в 2-кратной повторности. В качестве положительного контроля использовали в первом опыте 4-суточную культуру бактерий *Xylophilus ampelinus* (штамм 0050) и во втором опыте суточную культуру *Erwinia amylovora* (штамм CFBP 1430), выращенные на среде YPGA. В качестве отрицательного контроля использовали стерильный фосфатный буфер. Инокулированные растения инкубировали в течение 5 суток при 27 °С.

Результаты

Реакцию сверхчувствительности листьев табака *Nicotiana tabacum* при воздействии штаммов инокулированных бактерий определяли по следующим визуальным критериям: некроз и отсутствие некроза. Наличие хлороза, проявившегося на листьях у ряда штаммов, нами рассматривалось как неспецифическая реакция, т.е. отсутствие некроза.

Из 50 видов штаммов бактерий некрозы на листьях отмечены только для шести штаммов, включая два штамма (виды *Xylophilus ampelinus* и *Erwinia amylovora*) в позитивном контроле. Из использованных в опытах бактерий, относящихся к 9 родам, реакция сверхчувствительности была отмечена только для штаммов бактерий рода *Pseudomonas* (см. таблицу).

Явные некрозы были отмечены для ряда штаммов бактерий, выделенных как из нематод *B. mucronatus*, так и из *B. xylophilus*.

Штаммы бактерий с разных изолятов нематод проявляли разную степень патогенности. Из 25 изолятов нематод *B. mucronatus* из различных регионов России реакцию сверхчувствительности вызвали только штаммы бактерий *P. fluorescens* и *P. brenneri*. Данные бактерии были выделены из нематод *B. mucronatus*

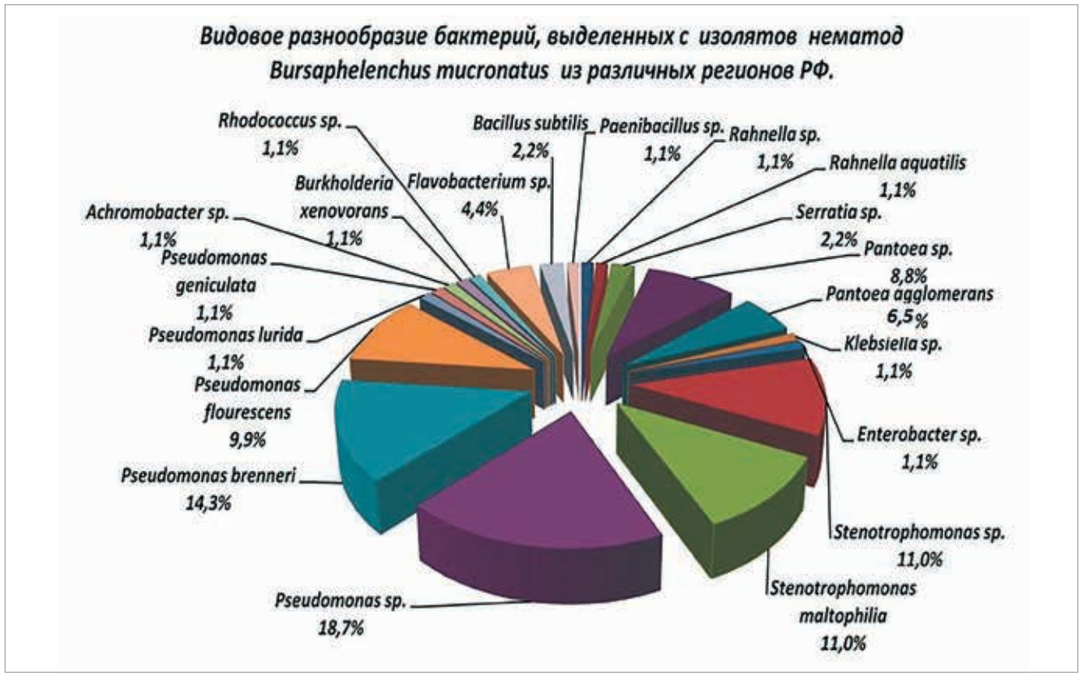


Рис. 1. Видовое разнообразие бактерий, выделенных с изолятов нематод B. mucronatus из различных регионов РФ

Fig. 1. Bacterial species, isolated from B. mucronatus nematode isolates from different regions of the Russian Federation

из Приморского края и Забайкалья соответственно (рис. 2а, б).

Из бактерий, связанных с нематодами *B. xylophilus*, явные некрозы вызывали штаммы *Pseudomonas fluorescens* (X 65) и *Pseudomonas* sp. (X 61), выделенные с американского изолята *B. xylophilus.*

Обсуждение результатов

Исследования, проведенные в последние годы в Японии, Китае и Корее, дают основание предположить, что заболевание «вилт хвойных пород» вызывается комплексом патогенов: сосновой стволовой нематодой *B. xylophilus* и патогенными бактериями-симбионтами, присутствующими на кутикуле нематод. При этом выделялись различные виды патогенных бактерий, которые, по мнению разных исследователей, могли быть основными патогенами, вызывающими «вилт хвойных пород». По мнению китайских ученых, основной бактериальный патоген в этом заболевании *Pseudomonas fluorescens* (Zhao, 2008; Li et al., 2009), в Южной Корее – это *Burkholderia arboris* (Kwon et al., 2010), в Японии – *Bacillus* spp. (Kawazu et al., 1996a, b). Выводы о том, что эти бактерии – основные патогены, вызывающие «вилт хвойных пород», основывались на опытах, в которых выявилась высокая степень фитотоксичности бактерий, в частности для *P. fluorescens* и *B. arboris* (Zhao, Lin, 2005; Kong et al., 2009; Kwon et al., 2010; Le et al., 2011).

В результате изучения 25 географических изолятов нематод B. mucronatus из различных районов РФ выделено и идентифицировано методом прямого секвенирования гена 16S rRNA 20 видов бактерий, относящихся к 13 родам.

Исследования по изучению бактерий – симбионтов нематод *B. xylophilus* проведены в разных странах (Zhao, 2008; Kwon et al., 2010; Vicente et al., 2013; Kulinich et al., 2016; Seong, Dong, 2016). В целом родовой состав бактериальной биоты у разных географических изолятов нематод сходен, однако бактерии-доминанты в этих исследованиях были различны. В одном случае наиболее часто встречались бактерии родов *Yersinia*, *Serratia*, *Pantoea*, *Erwinia*, *Ewingella*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* (Proenca et al., 2010). В других исследованиях (Vicente et al., 2011), также проведенных с португальскими изолятами *B. xylophilus*, из 26 выявленных видов бактерий доминирующими были представители родов *Serratia*, *Enterobacter*, *Ewingella* и *Pseudomonas*. При этом встречаемость бактерий *Pseudomonas* (доминировали *P. fluorescens*) составляла всего 2%. Результаты наших исследований сходны с данными, полученными китайскими учеными (Zhao, Lin, 2005; Zhao, 2008; Vicente et al., 2013), согласно которым бактерии *P. fluorescens* выделялись у всех изучаемых китайских изолятов нематод *B. xylophilus*, а проведенные тесты показали высокую фитотоксичность именно этих бактерий. В наших исследованиях бактерии рода *Pseudomonas* (*P. brenneri* или *P. fluorescens*) были выявлены как у американских, так и у португальских изолятов *B. xylophilus* (Arbuzova et al., 2016).

Анализируя результаты изучения патогенных бактерий – симбионтов нематод *B. xylophilus*, можно предположить, что разные географические изоляты нематод переносят разные виды бактерий, среди которых могут встречаться и патогенные, и нет сомнений в том, что переносимые нематодами бактерии участвуют в развитии бактериального комплекса.

Вид *B. mucronatus*, близкородственный *B. xylophilus*, имеет аналогичный цикл развития, те же растения-хозяева, и считается непатогенным или слабопатогенным. Однако полевые наблюдения и опыты в теплицах показывают, что в ряде случаев *B. mucronatus* может быть таким же патогенным, как и вид *B. xylophilus* (Mamiya, 1999; Zhang, Lin, 2004; Kulinich et al., 2010; Akbulut et al., 2015). Кроме того, разные популяции *B. xylophilus* также обладают разной степенью патогенности. Возможно, различия в патогенности между этими двумя видами нематод и их популяциями определяются наличием патогенных бактерий, переносимых этими нематодами.

Имеются единичные исследования в отношении изучения бактериальной биоты нематод *B. mucronatus* (Tian et al., 2011; Zhao et al., 2009, Arbuzova et al., 2016). Как и с видом *B. xylophilus*, родовой состав бактерий у различных географических изолятов *B. mucronatus* не сильно отличается друг от друга, но виды-доминанты разные. Сравнение бактериального разнообразия нематод *B. mucronatus* и *B. xylophilus*, включая наши данные, в целом показывает общность бактериальной биоты. Известно, что бактерии *P. fluorescens*, выявленные нами у обоих видов нематод, секретируют внеклеточную лигнин-пероксидазу, участвующую в биоразложении лигнина, т.е. в разрушении тканей дерева (Guo et al., 2008; Zhao, 2008; Li et al., 2009). Однако, как показывают наши исследования, патогенность штаммов бактерий одного и того же вида различна. Одни штаммы могут быть патогенными, другие нет. Так, среди 25 изолятов нематод из разных регионов России патогенные штаммы *Pseudomonas fluorescens* и *P. brenneri*, вызывающие некрозы, обнаружены только у двух изолятов нематод *B. mucronatus*. Таким образом, среди бактерий, переносимых нематодами, выявлены фитопатогенные штаммы, которые могут участвовать в развитии вилта хвойных пород, но для окончательных выводов необходимы дальнейшие исследования. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 15-04-07559).

Явные некрозы были отмечены для ряда штаммов бактерий, выделенных как из нематод B. mucronatus, так и из B. xylophilus.

Литература

1. Кулинич О.А., Богуан Зао, Рысс А.Ю., Козырева Н.И. Сосновая стволовая нематода // Защита и карантин растений. 2010. № 7. С. 36-39.
2. Abelleira A., Picoaga A., Mansilla J.P., Aguin O. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain // Plant Dis. 2011. V. 95. № 6. P. 776.
3. Arbuzova E.N., Kulinich O.A., Mazurin E.S., Ryss A.Yu., Kozyreva N.I., Zinovieva S.V. Pine Wilt Disease and Possible Causes of Its Incidence in Russia. Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Biologicheskaya, Microbiology, 2016, No. 4, pp. 358-365.
4. Akbulut S., Yüksel B., Serin M., Erdem M. Comparison of pathogenic potential of *Bursaphelenchus* species on conifer seedlings between greenhouse and outdoor conditions // Phytoparasitica. 2015. V. 43. P. 209-214.
5. Braasch H., Gu J., Burgermeister W. *Bursaphelenchus mucronatus kolymensis* comb.n. – new definition of the "European type" of *B. mucronatus* // J. Nematode Morphol. Syst. 2011. V. 14. № 2. P. 77-90.
6. Cao Y., Han Z.M., Li C.D. Studies on wilting toxic substances produced in pines infected by pine wood nematodes // Sci. Silv. Sin. 1997. 37. P. 75-79.
7. Futai K. Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* // Annu. Rev. Phytopathol. 2013. V. 51. P. 61-83.
8. Guo D., Zhao B., Li R., Kulinich O.A., Ryss A. Purification of flagellin of *Pseudomonas fluorescens* GcM5-1A carried by the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and its in vitro toxicity to a suspension of cells of *Pinus thunbergii* // Russ. J. Nemat. 2008. V. 16. № 2. P. 151-157.
9. Han Z.M., Hong Y.D., Zhao B.G. A study on pathogenicity of bacteria carried by the pine wood nematode // J. Phytopathol. 2003. V. 151. P. 683-689.
10. Kawazu K., Zhang H., Kanzaki H. Accumulation of benzoic acid in suspension cultured cells of *Pinus thunbergii* Parl. in response to phenylacetic acid administration // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996a. V. 60. P. 1410-1412.
11. Kawazu K., Zhang H., Yamashita H., Kanzaki H. Relationship between the pathogenicity of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and phenylacetic acid // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996b. 60. P. 1413-1415.
12. Kong L.Y., Guo D.S., Zhao B.G., Li R.G. Partial purification and characterization of extracellular lignin peroxidase from *Pseudomonas fluorescens* GcM5-1A // IUFRO Inter. Symp. On Pine Wilt Disease (Abst.), 20-23 July, 2009. Nanjing, China: Nanjing Forestry Univ., 2009. P. 54.
13. Kwon H.R., Gyung J.C., Yong H.C., Kyoung S.J., Nack-Do S., Mun S.K., Yilseong M., Seung K.L., Jin-Cheol K. Suppression of pine wilt disease by an antibacterial agent, oxolinic acid // Pest Manag. Sci. 2010. V. 66. № 6. P. 634-639.
14. Kulinich O., Drenova N., Arbuzova E., Kozyreva N., Mazurin E. Pathogenicity of nematode-associated bacteria from the wood-inhabiting nematodes *Bursaphelenchus mucronatus* and *B. xyliphilus* // In Proceedings of Pine Wilt Disease International Symposium. South Korea, Seoul, 2016 (IUFRO working party 7.02.10), 2016. P. 131.
15. Kulinich O., Zhao B., Kozyreva N. Pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* in Russia // J. Nanjing Forestry Univ. 2010. V. 34. № 2. P. 153-154.
16. Le D.Q., Son S.W., Cheon H., Choi G.J., Choi Y.H., Jang K.S., Lim C.H., Kim J.-C. Pyochelin isolated from *Burkholderia arboris* KRICT1 carried by pine wood nematodes exhibits phytotoxicity in pine callus // Nematology. 2011. V. 15. № 5. P. 521-528.
17. Li S.N., Guo D.S., Zhao B., Li R.G. Toxic secreted by *Pseudomonas fruorescens* GcM5-1A carries by pine wood nematode and their toxicities to Japanese black pine // IUFRO Inter. Symp. On Pine Wilt Disease (Abst.), 20-

23 July 2009. Nanjing, China: Nanjing Forestry Univ. 2009. P. 49.

18. Mamiya Y. Review on the pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* // Proc. Int. Symp. Tokyo, 27-28 Oct. 1998 Sustainability of Pine Forests in Relation to Pine Wilt and Decline. Eds Futai K., Togashi K., Ikeda T. / Tokyo: 1999. P. 57-64.

19. Mota M.M., Braasch H., Bravo M.A., Penas A.C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First record of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe // Nematology. 1999. V. 1. P. 727-734.

20. Mota M., Vieira P. Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems. Dordrecht: Springer, 2008. 428 p.

21. Proenca D.N., Francisco R., Santos C.V., Lopes A., Fonseca L., Abrantes I.M.O., Morais P.V. Diversity of bacteria associated with *Bursaphelenchus xylophilus* and other nematodes isolated from *Pinus pinaster* trees with pine wilt disease // PLOS One. 2010. V. 5. № 2. P. e15191.

22. Seong Hwan Kim, Dong Yeon Sub // In Proceedings of Pine Wilt Disease International Symposium. South Korea, Seoul, 2016 (IUFRO working party 7.02.10), 2016. P. 131.

23. Soliman T., Mourits M.C.M., Van der Werf W., Hengeveld G.M., Robinet C., Oude Lansink A.G.J.M. Framework for modelling economic impacts of invasive species, applied to pine wood nematode in Europe // PLOS One. 2012. V. 7, № 9. P. e45505.

24. Tian X., Cheng X., Mao Z., Chen G., Yang. J., Xie B. Composition of bacterial communities associated with a plant-parasitic nematode *Bursaphelenchus mucronatus* // Curr. Microbiol. 2011. V. 62. P. 117-125.

25. Vicente C.S.L., Nascimento F., Espada M., Mota M., Oliveira S. Bacteria associated with the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* collected in Portugal. Antonie Van Leeuwenhoek. 2011.100.477-481. DOI 10.1007/s10482-011-9602-1.

26. Vicente C.S.L., Nascimento F.X., Espada M., Barbosa P., Hasegawa K., Mota M., Oliveira S. Characterization of bacterial communities associated with the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*, the insect vector of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* // FEMS Microbiol. Lett. 2013. P. 1-10.

27. Zhang Z.Y., Lin M.S. Pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* on the seedlings of black pine // J. Nanjing Agricult. Univ. 2004. 27. P. 46-50.

28. Zhao B.G. Bacteria carried by the pine wood nematode and their symbiotic relationship with nematode // Pine Wilt Disease. Eds Zhao B.G., Futai K., Sutherland J.R., Takeuchi Y. / Tokyo: Springer, 2008. P. 264-274.

29. Zhao B.G., Lin F. Mutualistic symbiosis between *Bursaphelenchus xylophilus* and bacteria of the genus *Pseudomonas* // For. Path. 2005. 25. P. 2205-2214.

30. Zhao B.G., Lin F., Guo D., Li R.G., Li S.N., Kulinich O., Ryss A. Pathogenic roles the bacteria carried by *Bursaphelenchus mucronatus* // J. Nematol. 2009. V. 41. № 1. P. 11-16.

UDC 632.6.04+58.073

BACTERIA ASSOCIATED WITH WOOD-INHABITING *BURSAPHELENCHUS* NEMATODES,

as the Potential Causative of Pine Wilt Disease

O.A. Kulinich/**, N.V. Drenova*, E.N. Arbuzova*,*

*N.I. Kozyreva**, E.S. Mazurin**

** FBGU "VNIIKR"*

*** A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Parasitology Center, RAS*

Abstract. *Twenty bacterial species belonging to 13 genera have been isolated and identified by 16S rRNA gene sequencing from 25 nematode isolates of Bursaphelenchus mucronatus collected from different regions of the Russian Federation (RF). The most common bacteria were species of Pseudomonas spp. (frequency of occurrence 96%) genus, followed by Stenotrophomonas (64%), Pantoea (28%), Bacillus (8%), Burkholderia (4%), and Serratia (4%). The occurrence of Pseudomonas brenneri and P. fluorescens bacteria was 52% and 36%, respectively. Also bacterial species of two Portuguese and one American B. xylophilus nematodes isolates were studied. Ten associated bacteria species have been identified as Agrobacterium tumefaciens, Pseudomonas fluorescens, P. brenneri, Rahnella aquatilis, Stenotrophomonas maltophilia, S. rhizophila, Yersinia mollaretii. The pathogenicity of the bacteria strains was determined by hypersensitive reaction on Nicotiana tabacum L. (tobacco) leaves. Among the 50 strains of 16 bacterial species, leaf necroses only occurred following inoculation with Pseudomonas brenneri and P. fluorescens. The pathogenic strain of P. fluorescens was extracted from B. xylophilus nematodes, and two strains of Pseudomonas brenneri and P. fluorescens – from Russian B. mucronatus isolates. Out of 25 Russian nematode isolates of B. mucronatus only two contained strains of Pseudomonas brenneri and P. fluorescens, which induced necrosis.*

Keywords. *Pine wilt disease, nematodes, symbiotic bacteria, pathogenicity, Bursaphelenchus mucronatus, Bursaphelenchus xylophilus.*

Fig. 2a. The hypersensitivity reaction on tobacco Nicotiana tabacum L. leaves following inoculation with bacteria isolated from Bursaphelenchus mucronatus and B. xylophilus nematodes

Рис. 2а. Реакция сверхчувствительности табака Nicotiana tabacum L. в результате инокуляции бактерий, выделенных из нематод Bursaphelenchus mucronatus и B. xylophilus

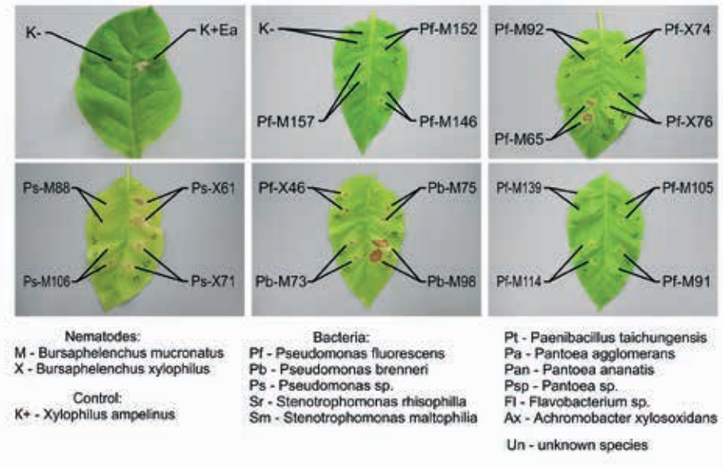
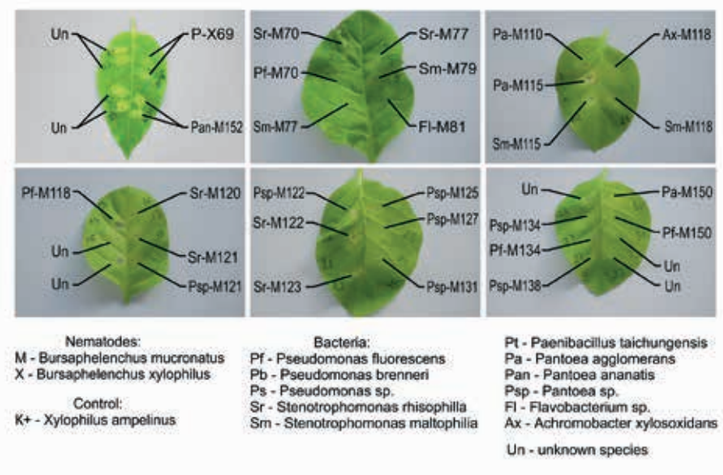


Fig. 2b. The hypersensitivity reaction on tobacco Nicotiana tabacum L. following inoculation with bacteria, isolated from the nematodes Bursaphelenchus mucronatus and B. xylophilus

Рис. 2б. Реакция сверхчувствительности табака Nicotiana tabacum L. в результате инокуляции бактерий, выделенных из нематод Bursaphelenchus mucronatus и B. xylophilus



Introduction

The Pine Wilt Disease, caused by the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*, is among the most economically important diseases of coniferous species in the world (Mota, Vieira, 2008; Soliman et al., 2012; Futai, 2013). Most countries of the world, including the Russian Federation, have added *B. xylophilus* to their plant quarantine lists. This pathogen is widespread in North America, but it does not cause the pine wilt epiphytotics there, as local coniferous species are resistant to this pathogen. It is believed that this nematode species was introduced into Asia at the beginning of 20th century. Currently the *B. xylophilus* is widespread in Japan, China and the Republic of Korea, and in 1999 year it was detected in Portugal (Mota et al., 1999). It is assumed that pine wood nematode was introduced into Portugal on wood packaging materials and then was widely spread by the insect vector *Monochamus galloprovincialis.* In 2008, the pathogen had already been detected in Spain (Abelleira et al., 2011). The pine wood nematode *B. xylophilus* has not been found anywhere in the Russian Federation officially, however the closely related species *B. mucronatus* is widespread in Russia and in neighbouring countries (Kulinich et al., 2010). The coniferous wood nematode *B. mucronatus* is considered as nonpathogenic or a low pathogenic species. However, results of inspections and experiments showed that some isolates of this species can kill conifers (Mamiya, 1999; Zhang, Lin, 2004; Kulinich et al., 2010; Akbulut et al., 2015). Life cycles of *B. xylophilus* and *B. mucronatus* are similar to and closely associated with insects (cerambycid beetles of the genus *Monochamus*), which transfer the nematodes from one tree to another.

The studies on pine wilt disease etiology over the last years has led to con-

clude that the disease is not caused by a single agent, i.e. the nematode, but by a broad range of pathogens including the nematode *B. xylophilus* and associated symbiotic phytotoxin-producing bacteria, which are the main factor causing the host plant death (Cao et al., 1997; Han et al., 2003; Zhao, Lin, 2005).

A symbiotic relationship between nematodes and bacteria transferred by nematodes has been shown in recent studies (Zhao, 2008; Zhao et al., 2009; Kwon et al., 2010; Proenca et al., 2010; Vicente et al., 2011, 2013). If one of the main causes of pine wilt disease symptoms is the presence of phytopathogenic bacteria producing phytotoxins, it would be advisable to study the bacterial biota of closely related species of *B. mucronatus*.

The results of research done with 25 geographical *B. mucronatus* isolates from different areas of the Russian Federation, showed the presence of 20 species of bacteria belonging to 13 genera. Following isolation these isolates were identified using *16S* rRNA gene sequencing (Fig. 1).

Bacteria of the genus *Pseudomonas* (96%), followed by *Stenotrophomonas* (64%), *Pantoea* (28%), *Bacillus* (8%), *Burkholderia* (4%), and *Serratia* (4%) were the most frequently encountered on *B. mucronatus* nematodes. The incidence of *Pseudomonas brenneri* and *P. fluorescens* bacteria was 52% and 36%, respectively. *Pseudomonas brenneri* and *P. fluorescens* bacteria have also been detected in the larvae of the nematodes (L_{IV}), isolated from the *Monochamus urussovi* beetle. Also two nematode isolates of *B. xylophilus* from Portugal and one from the United States have been studied, 10 species of symbiotic bacteria were isolated including *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. brenneri*, *Rahnella aquatilis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *S. rhizophila*, *Yersinia mollaretii* (Arbuzova et al., 2016). The further goal of our researches was to determinate the pathogenicity of bacteria strains isolated from *Bursaphelenchus mucronatus* and *B. xylophilus* nematodes.

The Pine Wilt Disease, caused by the pine wood nematode Bursaphelenchus xylophilus, is among the most economically important diseases of coniferous species in the world.

Materials and methods

Preparation of bacterial strains to be tested. Two series of experiments have been done on the phytopathogenic bacteria strains, isolated from wood-inhabiting *Bursaphelenchus mucronatus* and *B. xylophilus* nematodes. Tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.) were used to determine their hypersensitivity reaction following inoculation with various strains of the bacteria.

Among the bacterial strains isolated from nematodes, the 50 strains of bacteria belonging to 9 genera and 16 species which have been identified by using *16S* rRNA gene sequencing with 8UA/519B universal primers and stored at -70 °C in 15% glycyl alcohol solution until they were selected for testing (see Table). Twenty-four bacterial strains belonging to the genus *Pseudomonas* were tested too as it was the most numerous genus of bacterium found on these species of nematodes.

Pathogenicity of bacteria isolated from wood-inhabiting *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* nematodes, based on the hypersensitivity reaction (HR) on tobacco leaves

Bacteria Species	Bacteria Strain	Nematode Isolate	Origin of Nematode	HR on Tobacco
Bursaphelenchus mucronatus				
Pseudomonas fluorescens	Pf-M 157	169Б	Khabarovsk Krai	-
	Pf-M 152	56A	Zabaykalsky Krai	-
	Pf-M 150	56A	Zabaykalsky Krai	-
	Pf-M 146	49B	Zabaykalsky Krai	-
	Pf-M 139	91B	Khabarovsk Krai	-
	Pf-M 134	73A	Zabaykalsky Krai	-
	Pf-M 118	84A	Primorsky Krai	+
	Pf-M 114	A7	Altai Krai	-
	Pf-M 105	10Б	Perm Krai	-
	Pf-M 91	80A	Primorsky Krai	-
	Pf-M 92	80A	Primorsky Krai	-
	Pf-M 70	46	Khabarovsk Krai	-
Pseudomonas brenneri	Pb-M 73	185	Krasnoyarsk Krai	-
	Pb-M 75	10Б	Perm Krai	-
	Pb-M 98	78Б	Irkutsk Region	+
Pseudomonas sp.	Psp-M 88	80A	Primorsky Krai	-
	Psp-M 106	2-5-1-1	Krasnoyarsk Krai	-
Stenotrophomonas rhisophilla	Sr-M 70	46	Khabarovsk Krai	-
	Sr-M 77	32A	Zabaykalsky Krai	-
	Sr-M 120	84A	Primorsky Krai	-
	Sr-M 121	Beetle	Voronezh Region	-
	Sr-M 122	Beetle	Voronezh Region	-*
	Sr-M 123	Beetle	Voronezh Region	-*
Stenotrophomonas maltophilia	Sm-M 77	32A	Zabaykalsky Krai	-
	Sm-M 79	53A	Khabarovsk Krai	-
	Sm-M 115	A7	Altai Krai	-*
	Sm-M 118	84A	Primorsky Krai	-
Pantoea agglomerans	Pa-M 110	A7	Altai Krai	-
	Pa-M 150	56A	Zabaykalsky Krai	-
Pantoea ananatis	Pan-M 152	49B	Zabaykalsky Krai	-*
Pantoea sp.	Psp-M 115	A7	Altai Krai	-*
	Psp-M 121	Beetle	Voronezh Region	-
	Psp-M 122	Beetle	Voronezh Region	-*
	Psp-M 125	32A	Zabaykalsky Krai	-
	Psp-M 127	A1	Altai Krai	-
	Psp-M 131	203A	Khabarovsk Krai	-
	Psp-M134	73A	Zabaykalsky Krai	-
	M 138	91B	Khabarovsk Krai	-
Flavobacterium sp.	Fsp-M 81	53A	Khabarovsk Krai	-
Achromobacter xylosoxidans	Ax-M 118	84A	Primorsky Krai	-
Agrobacterium sp.	Asp-M 121	Beetle	Voronezh Region	-
Unknown species	M 114	A7	Altai Krai	-*
	M 139	91B	Khabarovsk Krai	-*
Bursaphelenchus xylophilus				
Agrobacterium tumefaciens	X 11	BxPo	Portugal	-
Pseudomonas fluorescens	X 74	US	USA	-
	X 76	US	USA	-
	X 46	BxPo	Portugal	-
Pseudomonas sp.	X 61	US	USA	+
	Pf-X 65	US	USA	+
	X 71´	US	USA	-*
	X 69	US	USA	-
Controls				
K+ (*Xylophilus ampelinus*)	(0050 strain)			+
K+ (*Erwinia amylovora*)	CFBP 1430	-	France	+
K-				-

«+» – necrosis; «-» – absence of necrosis; «-*» – unspecific reaction (chlorosis).

Research on phytopathogenic strains. The suspensions of one-day-old cultures in phosphate buffer at a concentration of 10^8 KOE/ml were used for infection. For each test *Nicotiana tabacum* L. tobacco leaves were inoculated with a bacterial suspension of each strain in a 2-fold replicate. As a positive control in the first experiment, the 4-day old cultures of *Xylophilus ampelinus* bacteria (0050 strain) was used and in the second experiment the one-day-old culture of *Erwinia amylovora* (CFBP 1430 strain), grown on YPGA medium was used. As a negative control a sterile phosphate buffer was used. The inoculated plants were incubated for 5 days at 27 °C.

Results

Nicotiana tabacum tobacco leaf hypersensitivity reaction to inoculation with the bacteria strains was visually rated as either necrosis or absence of necrosis. When chlorosis occurred on the leaves of several strains, the results were considered to be an unspecific response, i. e. absence of necrosis.

Out of 50 species of bacterial strains, leaf necroses occurred only for six strains including two strains (*Xylophilus ampelinus* and *Erwinia amylovora* species) in the positive control. Out of bacteria belonging to 9 genera, used in the experiments, the leaf hypersensitivity reaction has only been occurred when inoculations were made with strains *Pseudomonas* sp. genus (see Table).

Evident necroses were detected for several strains of bacteria, which had been isolated from both *B. mucronatus* and *B. xylophilus* nematodes.

The strains of bacteria from different isolates of nematodes showed a varying degree of pathogenicity. Out of the 25 isolates of *B. mucronatus* nematodes from different regions of the Russian Federation the hypersensitivity reaction has only been occurred following inoculation with the bacterial strains *P. fluorescens* and *P. brenneri*. These bacteria were isolated from *B. mucronatus* nematodes from Primorsky Krai and Zabaykalsky Krai, respectively (Fig. 2a, b).

Out of the bacteria associated with *B. xylophilus* nematodes, definite necroses were induced by *Pseudomonas fluorescens* (X 65) and *Pseudomonas* sp. (X 61) strains, isolated from the American isolate of *B. xylophilus*.

Discussion

Recent research done in Japan, China and Korea indicate that the pine wilt disease is caused by a pathogenic complex, i.e. *B. xylophilus* pine wood nematode and pathogenic symbiotic bacteria which are present on the cuticle of the

nematodes. Also, different species of pathogenic bacteria were identified, which, according to the opinion of various researchers, could be the major pathogens causing pine wilt disease. According to Chinese scientists, the main bacterial pathogen in this disease is *Pseudomonas fluorescens* (Zhao, 2008; Li et al., 2009), in South Korea – a *Burkholderia arboris* (Kwon et al., 2010), Japan – *Bacillus* spp. (Kawazu et al., 1996a, b). The conclusions that these bacteria are the main pathogens, which cause pine wilt disease, are based on experiments which revealed a high degree of phytotoxicity of bacteria, especially for *P. fluorescens* and *B. arboris* (Zhao, Lin, 2005; Kong et al., 2009; Kwon et al., 2010; Le et al., 2011).

The results of research done with 25 geographical B. mucronatus isolates from different areas of the Russian Federation, showed the presence of 20 species of bacteria belonging to 13 genera. Following isolation these isolates were identified using 16S rRNA gene sequencing.

Studies have also been done to determine the symbiotic bacteria associated with *B. xylophilus* nematodes in different countries (Zhao, 2008; Kwon et al., 2010; Vicente et al., 2013; Kulinich et al., 2016; Seong, Dong, 2016). In general, the bacterial genera of the bacterial biota in different geographical isolates of nematodes are similar; however, the dominant bacteria in these studies were different. In one case the most commonly isolated bacteria were species of *Yersinia*, *Serratia*, *Pantoea*, *Erwinia*, *Ewingella*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* genera (Proenca et al., 2010). In other studies (Vicente et al., 2011), also working with the Portuguese isolates of *B. xylophilus*, out of 26 identified species of bacteria, the dominant bacteria belonged to the genera *Serratia*, *Enterobacter*, *Ewingella* and *Pseudomonas*. At the same time the occurrence of *Pseudomonas* bacteria was only 2% (mostly *P. fluorescens*). The results of our research are similar to those obtained by Chinese scientists (Zhao, Lin, 2005; Zhao, 2008; Vicente et al., 2013), where *P. fluorescens* bacteria were isolated from all Chinese isolates of *B. xylophilus* nematodes, and where the inoculation results showed a high phytotoxicity of these particular bacteria. In our research, bacteria of the genus *Pseudomonas* (*P. brenneri* or *P. fluorescens*) were isolated from both the US, and Portuguese isolates of *B. xylophilus* (Arbuzova et al., 2016).

Based on the results of the research of pathogenic symbiotic bacteria associated with *B. xylophilus* nematodes, it can be stated that different geographical isolates of nematodes carry different species of bacteria, including those that are pathogenic and there is little doubt that the bacteria carried by nematodes are involved in pine wilt disease development.

Bursaphelenchus mucronatus species, closely related to *B. xylophilus* have a similar life cycle, the same host plants, and it is considered that this nematode is nonpathogenic or only weakly pathogenic. However, field observations and experiments in the greenhouses have shown that sometimes *B. mucronatus* can be as pathogenic as *B. xylophilus* (Mamiya, 1999; Zhang, Lin, 2004; Kulinich et al., 2010; Akbulut et al., 2015). Also different populations of *B. xylophilus* have varying degree of pathogenicity. Perhaps the differences in pathogenicity between these two species of nematodes and their populations are determined by the presence or absence of pathogenic bacteria carried by the nematodes.

Little research has been done related to the bacteria associated with the *B. mucronatus* nematode (Tian et al., 2011; Zhao et al., 2009, Arbuzova et al., 2016). As with *B. xylophilus* species, the bacterial genera of different geographical isolates of *B. mucronatus* differ only slightly, but the dominant species are different. Comparison of bacterial diversity of *B. mucronatus* and *B. xylophilus* nematodes, including our data, shows large homogeneity in the bacterial biota. It is known that *P. fluorescens* bacteria, identified by us on both nematode species, secretes extracellular lignin peroxidase, which participates in lignin biodeterioration, i.e. in the destruction of tree tissues (Guo et al., 2008; Zhao, 2008; Li et al., 2009). However, the pathogenicity of bacteria strains of the same species is different in our researches unclear statement. Some strains may be pathogenic, others not. Thus, among the 25 isolates of nematodes from different regions of Russia the pathogenic strains of *Pseudomonas fluorescens*, and *P. brenneri*, causing necroses, are found only in two isolates of *B. mucronatus* nematodes. Thus, among the nematode-associated bacteria, phytopathogenic strains have been identified that may be involved in the development of pine wilt disease, but more research is needed on this topic.

The forgoing work was carried out with the financial support of the RFBR (grant 15-04-07559).

References

1. Abelleira A., Picoaga A., Mansilla J.P., Aguin O. Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain // Plant Dis. 2011. V. 95. № 6. P. 776.

2. Akbulut S., Yüksel B., Serin M., Erdem M. Comparison of pathogenic potential of *Bursaphelenchus* species on conifer seedlings between greenhouse and outdoor conditions // Phytoparasitica. 2015. V. 43. P. 209-214.

3. Arbuzova E.N., Kulinich O.A., Mazurin E.S., Ryss A.Yu., Kozyreva N.I., Zinovieva S.V. Pine Wilt Disease and Possible Causes of Its Incidence in Russia. Izvestiya Akademii Nauk, Seriya Biologicheskaya, Microbiology, 2016, No. 4, pp. 358-365.

4. Braasch H., Gu J., Burgermeister W. *Bursaphelenchus mucronatus kolymensis* comb.n. – new definition of the "European type" of *B. mucronatus* // J. Nematode Morphol. Syst. 2011. V. 14. № 2. P. 77-90.

5. Cao Y., Han Z.M., Li C.D. Studies on wilting toxic substances produced in pines infected by pine wood nematodes // Sci. Silv. Sin. 1997. 37. P. 75-79.

6. Futai K. Pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* // Annu. Rev. Phytopathol. 2013. V. 51. P. 61-83.

7. Guo D., Zhao B., Li R., Kulinich O.A., Ryss A. Purification of flagellin of *Pseudomonas fluorescens* GcM5-1A carried by the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and its in vitro toxicity to a suspension of cells of *Pinus thunbergii* // Russ. J. Nemat. 2008. V. 16. № 2. P. 151-157.

8. Han Z.M., Hong Y.D., Zhao B.G. A study on pathogenicity of bacteria carried by the pine wood nematode // J. Phytopathol. 2003. V. 151. P. 683-689.

9. Kawazu K., Zhang H., Kanzaki H. Accumulation of benzoic acid in suspension cultured cells of *Pinus thunbergii* Parl. in response to phenylacetic acid administration // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996a. V. 60. P. 1410-1412.

10. Kawazu K., Zhang H., Yamashita H., Kanzaki H. Relationship between the pathogenicity of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*, and phenylacetic acid // Biosci. Biotechnol. Biochem. 1996b. 60. P. 1413-1415.

11. Kong L.Y., Guo D.S., Zhao B.G., Li R.G. Partial purification and characterization of extracellular lignin peroxidase from *Pseudomonas fluorescens* GcM5-1A // IUFRO Inter. Symp. On Pine Wilt Disease (Abst.), 20-23 July, 2009. Nanjing, China: Nanjing Forestry Univ., 2009. P. 54.

12. Kwon H.R., Gyung J.C., Yong H.C., Kyoung S.J., Nack-Do S., Mun S.K., Yilseong M., Seung K.L., Jin-Cheol K. Suppression of pine wilt disease by an antibacterial agent, oxolinic acid // Pest Manag. Sci. 2010. V. 66. № 6. P. 634-639.

13. Kulinich O., Drenova N., Arbuzova E., Kozyreva N., Mazurin E. Pathogenicity of nematode-associated bacteria from the wood-inhabiting nematodes *Bursaphelenchus mucronatus* and *B. xyliphilus* // In Proceedings of Pine Wilt Disease International Symposium. South Korea, Seoul, 2016. (IUFRO working party 7.02.10), 2016. P. 131.

14. Kulinich O., Zhao B., Kozyreva N. Pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* in Russia // J. Nanjing Forestry Univ. 2010. V. 34. № 2. P. 153-154.

15. Kulinich O.A., Zhao Boguan, Ryss A.Yu., Kozyreva N.I. Pine wood nematode // Protection and quarantine of plants. 2010. № 7. P. 36-39 (Ru).

16. Le D.Q., Son S.W., Cheon H., Choi G.J., Choi Y.H., Jang K.S., Lim C.H., Kim J.-C. Pyochelin isolated from *Burkholderia arboris* KRICT1 carried by pine wood nematodes exhibits phytotoxicity in pine callus // Nematology. 2011. V. 15. № 5. P. 521-528.

17. Li S.N., Guo D.S., Zhao B., Li R.G. Toxic secreted by *Pseudomonas fruorescens* GcM5-1A carries by pine wood nematode and their toxicities to Japanese black pine // IUFRO Inter. Symp. On Pine Wilt Disease (Abst.), 20-23 July 2009. Nanjing, China: Nanjing Forestry Univ. 2009. P. 49.

18. Mamiya Y. Review on the pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* // Proc. Int. Symp. Tokyo, 27-28 Oct. 1998 Sustainability of Pine Forests in Relation to Pine Wilt and Decline. Eds Futai K., Togashi K., Ikeda T. / Tokyo: 1999. P. 57-64.

Evident necroses were detected for several strains of bacteria, which had been isolated from both B. mucronatus and B. xylophilus nematodes.

19. Mota M.M., Braasch H., Bravo M.A., Penas A.C., Burgermeister W., Metge K., Sousa E. First record of *Bursaphelenchus xylophilus* in Portugal and in Europe // Nematology. 1999. V. 1. P. 727-734.

20. Mota M., Vieira P. Pine wilt disease: A worldwide threat to forest ecosystems. Dordrecht: Springer, 2008. 428 p.

21. Proenca D.N., Francisco R., Santos C.V., Lopes A., Fonseca L., Abrantes I.M.O., Morais P.V. Diversity of bacteria associated with *Bursaphelenchus xylophilus* and other nematodes isolated from *Pinus pinaster* trees with pine wilt disease // PLOS One. 2010. V. 5. № 2. P. e15191.

22. Seong Hwan Kim, Dong Yeon Sub // In Proceedings of Pine Wilt Disease International Symposium. South Korea, Seoul, 2016 (IUFRO working party 7.02.10), 2016. P. 131.

23. Soliman T., Mourits M.C.M., Van der Werf W., Hengeveld G.M., Robinet C., Oude Lansink A.G.J.M. Framework for modelling economic impacts of invasive species, applied to pine wood nematode in Europe // PLOS One. 2012. V. 7, № 9. P. e45505.

24. Tian X., Cheng X., Mao Z., Chen G., Yang. J., Xie B. Composition of bacterial communiti es associated with a plant-parasitic nematode *Bursaphelenchus mucronatus* // Curr. Microbiol. 2011. V. 62. P. 117-125.

25. Vicente C.S.L., Nascimento F., Espada M., Mota M., Oliveira S. Bacteria associated with the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* collected in Portugal. Antonie Van Leeuwenhoek. 2011.100.477-481. DOI 10.1007/s10482-011-9602-1.

26. Vicente C.S.L., Nascimento F.X, Espada M., Barbosa P., Hasegawa K., Mota M., Oliveira S. Characterization of bacterial communities associated with the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis*, the insect vector of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* // FEMS Microbiol. Lett. 2013. P. 1-10.

27. Zhang Z.Y., Lin M.S. Pathogenicity of *Bursaphelenchus mucronatus* on the seedlings of black pine // J. Nanjing Agricult. Univ. 2004. 27. P. 46-50.

28. Zhao B.G. Bacteria carried by the pine wood nematode and their symbiotic relationship with nematode // Pine Wilt Disease. Eds Zhao B.G., Futai K., Sutherland J.R., Takeuchi Y. / Tokyo: Springer, 2008. P. 264-274.

29. Zhao B.G., Lin F. Mutualistic symbiosis between *Bursaphelenchus xylophilus* and bacteria of the genus *Pseudomonas* // For. Path. 2005. 25. P. 2205-2214.

30. Zhao B.G., Lin F., Guo D., Li R.G., Li S.N., Kulinich O., Ryss A. Pathogenic roles the bacteria carried by *Bursaphelenchus mucronatus* // J. Nematol. 2009. V. 41. № 1. P. 11-16.

УДК 591.91

ЭНТОМОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕДИЦИЯ В КИРГИЗИЮ ВО ВНУТРЕННИЙ ТЯНЬ-ШАНЬ

А.В. Филиппов, ведущий агроном
Бурятской испытательной лаборатории Иркутского филиала ФГБУ «ВНИИКР»

Аннотация. *Совершена энтомологическая экспедиция в Киргизию, во Внутренний Тянь-Шань. В результате проведенных исследований составлен фаунистический список. Сделаны сборы разных отрядов насекомых для пополнения энтомологической коллекции.*

Ключевые слова. *Биоразнообразие, энтомофауна, лепидоптерология, Киргизия, Внутренний Тянь-Шань.*

В июне-июле 2016 года ведущий агроном Бурятской испытательной лаборатории Иркутского филиала ФГБУ «ВНИИКР» принимал участие в энтомологической экспедиции в Киргизию с целью сбора коллекционного материала по различным группам насекомых, преимущественно Rhopalocera. Основное внимание было уделено высокогорной энтомофауне Северного и особенно Внутреннего Тянь-Шаня на высотах более 3000 метров над уровнем моря.

Рис. 1. Киргизский хребет, ущелье Чон-Курчак, высота 3700 м, вид на перевал Байчечекей (фото А.В. Филиппова)

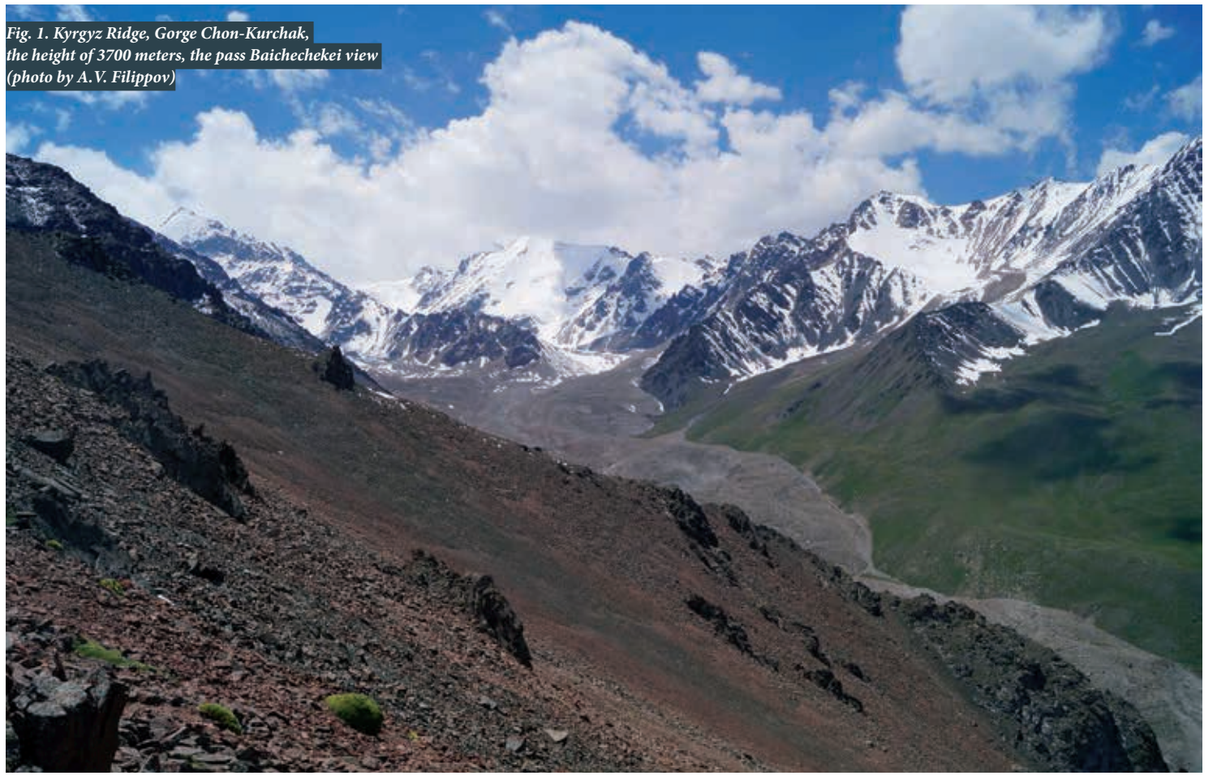


Fig. 1. Kyrgyz Ridge, Gorge Chon-Kurchak, the height of 3700 meters, the pass Baichechekei view (photo by A.V. Filippov)

Fig. 2. Kyrgyz Ridge, Gorge Chon-Kurchak, the height of 3800 meters, the Semenov Tian-Shan peak view (photo by A.V. Filippov)

Рис. 2. Киргизский хребет, ущелье Чон-Курчак, высота 3800 м, вид на пик Семенова-Тян-Шанского (фото А.В. Филиппова)

Fig. 3. Kyrgyz Ridge, Gorge Chon-Kurchak, the height of 4000 meters (photo by A.V. Filippov)

Рис. 3. Киргизский хребет, ущелье Чон-Курчак, высота 4000 м (фото А.В. Филиппова)

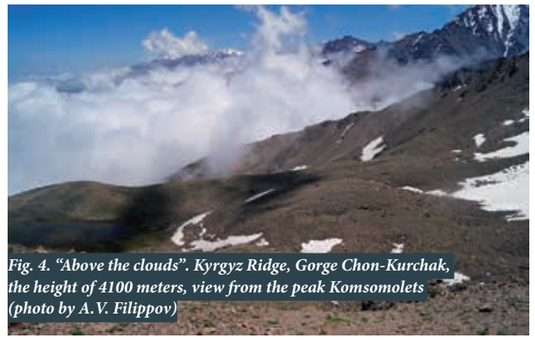


Fig. 4. "Above the clouds". Kyrgyz Ridge, Gorge Chon-Kurchak, the height of 4100 meters, view from the peak Komsomolets (photo by A.V. Filippov)

Рис. 4. «Выше облаков». Киргизский хребет, ущелье Чон-Курчак, высота 4100 м, вид с пика Комсомолец (фото А.В. Филиппова)

Киргизия, являющаяся одним из центров видообразования чешуекрылых, на протяжении всей истории лепидоптерологии вызывает огромный интерес у ученых, коллекционеров и любителей природы. Внутренний Тянь-Шань занимает четвертую часть республики. Это самая высокогорная область Киргизии – почти вся его территория находится выше отметки 1500 метров над уровнем моря. С севера ограничен горным хребтом Терской Ала-Тоо, Киргизским и Таласским хребтами, с юга – Какшаал-Тоо, с запада – Ферганским хребтом, с востока – горным узлом Центрального Тянь-Шаня. Рельеф очень сложный, что порождает разнообразие биотопов, и как следствие – высокий эндемизм и большое количество видов. Ежегодно с этой территории описываются новые таксоны.

Огромное биоразнообразие, развитая дорожная сеть и доброжелательное отношение к гражданам РФ делают Киргизию очень интересной и удобной страной для энтомологических экспедиций.

Огромное биоразнообразие, развитая дорожная сеть и доброжела-

тельное отношение к гражданам РФ делают Киргизию очень интересной и удобной страной для энтомологических экспедиций. Широкий спектр фруктов и овощей, ежегодно поставляемых из Киргизии в Россию, обусловливает необходимость проведения фитосанитарных исследований территории республики, являющейся местообитанием большого количества карантинных для РФ видов.

Энтомологические исследования проводились с 24 июня по 27 июля 2016 года. Передвижение осуществлялось на автомобиле с повышенной проходимостью, обеспечившем возможность попасть в труднодоступные высокогорные районы и максимальную мобильность. Всего планировалось 12 остановок для лова энтомофауны.

Первые сборы были проведены в автономном семидневном походе на северный макросклон Киргизского хребта в ущелье Чон-Курчак. Были собраны серии *Parnassius patricius uzungyrus* и *Melitaea ludmila ludmila*, для которых эти места являются типовыми локалитетами. Вдоль ручьев встречались листоеды (Chrysomelidae), нарывники (Meloidae), под камнями – жужелицы (Carabidae) из родов *Carabus*, *Boreonebria* и *Bembidion*. Отдельного упоминания заслуживает редкий представитель семейства медведиц (Arctiidae) – *Acerbia seitzi*, пойманный в нивальном поясе гор на высоте более 4000 метров.

Экспедиция продолжилась в полупустынных ландшафтах западного побережья озера Иссык-Куль в горах Тегерек. Были собраны типичные нижнегорные виды чешуекрылых – *Chazara heydenreichi*, *Esperarge eversmanni*, *Hipparchia autonoe*, *Hyponephele kirghisa*, *Pseudochazara turkestana*, *Phoenicurusia margelanica*, узколокальные эндемики *Athamanthia eitschbergeri* и *Hyponephele issykkuli*. Получен богатый материал по перепончатокрылым (Hymenoptera) из надсемейств Sphecoidea, Vespoidea, Chrysidoidea, Apoidea и двукрылым (Diptera).

Далее маршрут пролегал по территории Внутреннего Тянь-Шаня. Первое место сборов – перевал Кынды на хребте Ат-Баши, служащий воротами в долину реки Ак-Сай – одного из наименее населенных мест Киргизии.

Fig. 5. The crags' erosion, on the western shore of the Issyk-Kul Lake, Tegerek mountains (photo by A.V. Filippov)

Рис. 5. Эрозия скал, западный берег озера Иссык-Куль, горы Тегерек (фото А.В. Филиппова)

Fig. 6. The crags' erosion, on the western shore of the Issyk-Kul Lake, Tegerek mountains (photo by A.V. Filippov)

Рис. 6. Эрозия скал, западный берег озера Иссык-Куль, горы Тегерек (фото А.В. Филиппова)

Для посещения этого района заблаговременно оформлялись пограничные пропуска. Отмечены *Parnassius actius ambrosius*, *Colias cocandica*, *Pieris narina*, *Erebia mopsos*, *Polycaena tamerlana timur*, *Agriades pheretiades tekessanus*. Были встречены очень характерные среднеазиатские ландшафты – сырты, представляющие собой плоскогорья полупустынного характера, простирающиеся на многие километры. Их исследование выявило скакуна *Cicindela granulata* и большое количество жуков-чернотелок (Tenebrionidae), относящихся к нескольким видам.

Первые сборы были проведены в автономном семидневном походе на северный макросклон Киргизского хребта в ущелье Чон-Курчак.

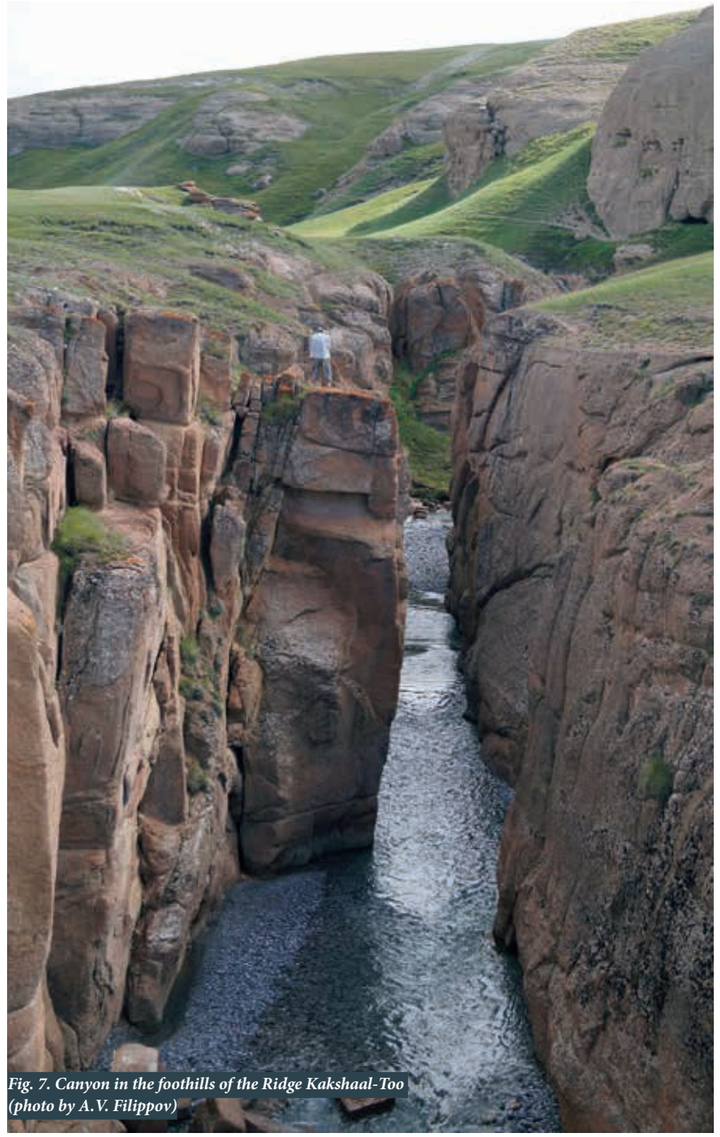


Fig. 7. Canyon in the foothills of the Ridge Kakshaal-Too (photo by A.V. Filippov)

Рис. 7. Каньон в предгорьях хребта Какшаал-Тоо (фото А.В. Филиппова)

Долина реки Ак-Сай пролегает на высотах 3100-3400 метров и зажата между горными хребтами Ат-Баши и Какшаал-Тоо, который был следующей целью экспедиции. Хребет Какшаал-Тоо – самый южный в Киргизии, по нему проходит граница с Китаем. Были проведены сборы на его южном макросклоне в горах Сары-Белес – очень отдаленном и труднодоступном районе. Полное отсутствие хозяйственной деятельности человека и незначительный выпас скота обусловили почти нетронутые биотопы с огромным биоразнообразием. Сделаны интересные сборы дневных бабочек *Parnassius boedromius prasolovi*, *Parnassius delphius karasharica*, *Colias staudingeri*, *Erebia kalmuca*, *Erebia mongolica*, *Erebia sokolovi severa*, *Karanasa tankrei*, *Clossiana hegemone*, *Boloria generator* и медведицы *Palearctia glaphyra*.

В течение шести дней совершались радиальные выходы на маршруты на разные высоты до 3800 метров.

Следуя намеченным маршрутом, группа продолжила движение вдоль перевала Торугарт на хребет Байбиче, где были исследованы локалитеты с низкогорной фауной. Дополнены сборы по жесткокрылым (Carabidae, Chrysomelidae, Tenebrionidae, Meloidae), перепончатокрылым (Mutillidae, Chrysidoidea, Apoidea) и двукрылым (сем. Asilidae). Из интересных видов чешуекрылых хочется отметить *Parnassius apollonius narynus*, *Pontia chloridice*, *Chazara heydenreichi tapkae*, *Hyponephele glasunovi magna*, *Hyponephele rueckbeili*, *Neolycaena medea idyia*.

Завершающими местами исследований во Внутреннем Тянь-Шане стали верховья реки Карасу на хребте Джаман-Тоо и хребет Молдо-Тоо. В течение шести дней совершались радиальные выходы на маршруты на разные высоты до 3800 метров. Были найдены недавно описанные подвиды аполлонов *Parnassius simonius saluki* и *Parnassius staudingeri vladimir*, а также *Parnassius actius ambrosius*, *Parnassius tianschanicus thiseus*, *Paralasa kuznezovi kolesnichenkoi*, *Melitaea fergana vladislavi*, *Thersamolycaena splendens*.

Также на протяжении маршрута были собраны серии карантинных для РФ организмов – горного кольчатого шелкопряда (*Malacosoma parallela*) и непарного шелкопряда с неясным подвидовым статусом (*Lymantria dispar*), которые будут переданы в научно-методический отдел энтомологии ФГБУ «ВНИИКР».

Несмотря на сложные погодные условия в течение всей поездки, сопровождающейся обильными дождями, а в условиях высокогорья – градом и снегом, экспедицией был собран богатый материал по разным группам насекомых, который будет передан специалистам для изучения, а также пополнит энтомологическую коллекцию музея ФГБУ «ВНИИКР».

Автор статьи выражает благодарность своим спутникам по поездке Н.И. Рубину, Ю.А. Соболевской (Беларусь, г. Гродно) и Е.В. Филиппову (г. Санкт-Петербург), без участия которых экспедиция не состоялась бы.

UDC 591.91

ENTOMOLOGIC EXPEDITION TO KYRGYZSTAN
TO THE INNER TIAN SHAN

A.V. Filippov, Leading Agronomist in Buryat Research Laboratory of FGBU "VNIIKR" Irkutsk Branch

Abstract. *The entomological expeditions to Kyrgyzstan and to the Inner Tian Shan have been realized. Due to results of carried out researches the faunal list has been compiled and the various insect orders have been gathered to replenish entomological collection.*

Keywords. *Biodiversity, entomofauna, lepidopterology, Kyrgyzstan, the Inner Tian Shan.*

Vast biological diversity, advanced traffic network and inviting atmosphere for the citizens of Russia make Kyrgyzstan a very interesting and convenient country for entomology expeditions.

In June and July 2016 leading agronomist of Buryat research laboratory of FGBU "VNIIKR" Irkutsk branch took part in entomology expedition in order to collect specimen materials of different insect groups, primarily Rhopalocera. Main focus was on high mountain entomofauna of Northern and especially the Inner Tian Shan at the altitude of 3000 meters above the sea level.

Kyrgyzstan is one of the speciation center of lepidopterous insects. Throughout lepidopterology history the country has been kindling the interest of scientists, collectors and nature amateurs. The Inner Tian Shan occupies one-fourth of the republic area. It is the highest mountain region of Kyrgyzstan – almost all territory is above 1500 meters above the sea level. It is bounded on the north by the Terskey Ala-Too mountain range, the Kyrgyz and the Talas Ridges, on the south by the Kakshaal Too, on the west by the Fergana Range, on the east by plexus of mountains of Central Tian Shan. Terrain is quite rugged, which creates a diversity of biotopes and results in high endemism and large number of species. New taxons on this territory are described annually.

Vast biological diversity, advanced traffic network and inviting atmosphere for the citizens of Russia make Kyrgyzstan a very interesting and convenient country for entomology expeditions. A wide range of fruits and vegetables that are annually delivered to Russia from Kyrgyzstan make it necessary to conduct phytosanitary research of the territory of the republic, which is a habitat for large number of quarantine species of the Russian Federation.

The entomology research was conducted from June 24 till July 27 2016. The expedition travelled by an off-road car that enabled to get to hardly accessible high mountainous regions and ensure maximum mobility. The schedule contained 12 halting points for catching entomofauna.

Fig. 8. The Ridge Kakshaal-Too, Sary-Beles Mountains, the upper reaches of the river Kok-Kiya (photo by A.V. Filippov)

Рис. 8. Хребет Какшаал-Тоо, горы Сары-Белес, верховья реки Кок-Кия (фото А.В. Филиппова)

Рис. 9. Хребет Байбиче (фото А.В. Филиппова)

Fig. 9. Ridge Baibiche (photo by A.V. Filippov)

First collection took place during autonomous seven-day trip to northern macroslope of the Kirghiz Ridge in the gorge Chon-Kurchak.

First collection took place during autonomous seven-day trip to northern macroslope of the Kirghiz Ridge in the gorge Chon-Kurchak. The members of the expedition collected series of *Parnassius patricius uzungyrus* and *Melitaea ludmila ludmila* for which these places are a locality. The expedition found chrysomelids (Chrysomelidae) and blister beetles (Meloidae) along the streams and ground beetles (Carabidae) of *Carabus*, *Boreonebria* and *Bembidion* genus under the stones. *Acerbia seitzi*, a rare representative of arctiid family (Arctiidae), which was caught in the nival belt of the mountains at the height of 4000 meters.

The expedition continued in deserted landscapes of the Western coast of the lake Issyk-Kul in the Tegerek mountains. There were collected typical low-mountain *Lepidoptera* species – *Chazara heydenreichi*, *Esperarge eversmanni, Hipparchia autonoe*, *Hyponephele kirghisa*, *Pseudochazara turkestana*, *Phoenicurusia margelanica*, strictly local endemic species *Athamanthia eitschbergeri* and *Hyponephele issykkuli*. The collected material concerned Hymenoptera from the superfamilies Sphecoidea, Vespoidea, Chrysidoidea, Apoidea, and Diptera.

Later, the route went through the Inner Tian Shan. The first camp location was at the Khyndy Pass on At-Bashy Ridge leading to the Ak-Say river valley, one of the least populated places in Kyrgyzstan. Permissions to cross the borders had been issued in advance to visit that area. There were noted the species *Parnassius actius ambrosius*, *Colias cocandica*, *Pieris narina*, *Erebia mopsos*, *Polycaena tamerlana timur*, *Agriades pheretiades tekessanus*. The expedition encountered very typical Central Asian landscapes, syrts, highlands covering many kilometres. As a result of their inspection, there were de-

Fig. 10. Ridge Baibiche (photo by A.V. Filippov)

Рис. 10. Хребет Байбиче (фото А.В. Филиппова)

Рис. 11. Хребет Байбиче (фото А.В. Филиппова)

Fig. 11. Ridge Baibiche (photo by A.V. Filippov)

Рис. 13. Хребет Джаман-Тоо (фото А.В. Филиппова)

Fig. 13. Ridge Jaman Too (photo by A.V. Filippov)

Рис. 14. Хребет Джаман-Тоо (фото А.В. Филиппова)

Fig. 14. Ridge Jaman Too (photo by A.V. Filippov)

Fig. 12. Ridge Baibiche (photo by A.V. Filippov)

Рис. 12. Хребет Байбиче (фото А.В. Филиппова)

tected tiger-beetles *Cicindela granulata* and a large number of darkling beetles Tenebrionidae of several species.

The Ak-Say river valley is situated at the altitude of 3100-3400 meters between At-Bashy and the Kakshaal Too Ranges. The latter was the expedition's next aim. The border with China goes along the Kakshaal Too, the most Southern range in Kirghizia. Material was collected on its Southern macroslope in the Sary-Beles mountains, a very remote and difficult to approach area. Complete lack of human economic activities и small live-stock grazing provided almost untouched biotopes with biodiversity. Very unusual butterflies were collected, such as *Parnassius boedromius prasolovi*, *Parnassius delphius karasharica*, *Colias staudingeri*, *Erebia kalmuca*, *Erebia mongolica*, *Erebia sokolovi severa*, *Karanasa tankrei*, *Clossiana hegemone*, *Boloria generator*, and tiger moths *Palearctia glaphyra*.

Following the planned route, the group proceeded along the Torugart Pass to the Baibiche Ridge, were they inspected the localities with low-mountain fauna. Additionally, there were collected coleopterous species (Carabidae, Chrysomelidae, Tenebrionidae, Meloidae), hymenopterans (Mutillidae, Chrysidoidea, Apoidea) and dipterous (family Asilidae). The most interesting lepidopterous species are *Parnassius apollonius narynus*, *Pontia chloridice*, *Chazara heydenreichi tapkae*, *Hyponephele glasunovi magna*, *Hyponephele rueckbeili*, *Neolycaena medea idyia*.

The radial yields on routes at different heights up to 3800 meters have been effected during the six days.

The headwaters of the river Karasu on the ridge and Jaman-Too mountain range Moldo-Too have become the completive places of researches in the Inner Tian Shan. The radial yields on routes at different heights up to 3800 meters have been effected during the six days. It has been found the recent described subspecies of the Apollo *Parnassius simonius saluki* and *Parnassius staudingeri vladimir*, and *Parnassius actius ambrosius*, *Parnassius tianschanicus thiseus*, *Paralasa kuznezovi kolesnichenkoi*, *Melitaea fergana vladislavi*, *Thersamolycaena splendens*.

Also along the itinerary have been collected a series of quarantine organisms for the Russian Federation – a mountain lackey moth (*Malacosoma parallela*) and gypsy moth with unclear subspecific status (*Lymantria dispar*), which will be passed to the Entomology Scientific and Methodological Department of FGBU "VNIIKR".

Despite the severe weather conditions during the whole trip, accompanied by abundant rainfall, and in the high mountains – by hail and snow, the expedition has collected the large and rich material on different groups of insects, which will be partially passed to specialists for study, as well as to replenish the entomological collection of museum FGBU "VNIIKR".

The author expresses his gratitude to his companions on the trip, namely N.I. Rubin Y.A. Sobolevskaya (Belarus, Grodno) and E.V. Filippov (Saint-Petersburg), without whose participation the expedition would not be succeeded.

УДК 632.7.08

Влияние модификаторов на аттрактивность ФЕРОМОНА КАШТАНОВОЙ МОЛИ *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA ET DIMIČ, 1986

Н.М. Атанов, ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
Н.П. Кузина, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
А.А. Кузин, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»
М.В. Чирская, старший научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»

Аннотация. *Объектом исследования является каштановая моль Cameraria ohridella. Изучено влияние трех модификаторов и их соотношений в сочетании со стандартной дозой феромона на аттрактивность в клеевой ловушке типа «Дельта».*

В результате проведенных испытаний можно рекомендовать клеевую ловушку типа «Дельта» с диспенсером (резиновая пробка) с содержанием феромона в количестве 2 мг + модификатор.

Ключевые слова. *Каштановая моль, Cameraria ohridella, феромон, диспенсер, ловушки, препаративная форма, аттрактивность, модификатор.*

Минирующая моль листьев каштана – каштановая моль, или охридский минер (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič, 1986), относится к молям-пестрянкам (Insecta, Lepidoptera, Gracillariidae); была описана по результатам сбора 1984-1985 гг. из горной местности Македонии.

Данный вид характеризуется узкой пищевой специализацией, повреждая листья конского каштана (*Aesculus*) и клена (*Acer pseudoplatanus*). Гусеницы минера повреждают не только листья конского каштана *Aesculus hippocastanum* и родственных видов *A. carnea* и *A. pavia*, но также и ряд видов кленов. Сильнее всего повреждается вид *A. pavia* (Буров, 1987; Гниненко, 2002).

По состоянию на 2016 год каштановая минирующая моль отмечена на территории следующих стран: Австрия, Албания, Бельгия, Болгария, Босния, Великобритания, Венгрия, Германия, Герцеговина, Греция, Дания, Испания, Италия, Косово, Латвия, Литва, Лихтенштейн, Люксембург, Македония, Молдавия, Нидерланды, Норвегия, Польша, Румыния, Сербия, Словакия, Словения, Турция, Украина, Франция, Чехия, Швейцария, Швеция, Хорватия и Эстония, а также в европейской части России.

Гусеницы минера повреждают не только листья конского каштана Aesculus hippocastanum и родственных видов A. carnea и A. pavia, но также и ряд видов кленов.

Ареал каштановой минирующей моли продолжает увеличиваться из-за широко используемого по всей Европе и в Азии конского каштана обыкновенного в декоративных целях в городских и пригородных районах. За лето и осень 2013 года моль распространилась в нескольких местах в Норвегии, а именно в Фредрикстаде, Фрогне и Осло. В России моль встречается в Калининградской области. Каштановая моль распространилась в Брянской, Курской, Белгородской, Ростовской, Орловской и Московской областях. В Московской области каштановая моль развивается в двух поколениях: 1-е – в мае и 2-е поколение – в июле (Гниненко, 2002). Лет имаго наблюдается с мая по сентябрь.

Основным методом борьбы с каштановой молью является химический, но его применение лимитировано скрытным образом жизни личинок и ограничениями применения пестицидов на зеленых растениях в условиях городской среды.

Феромонный метод благодаря экологической безопасности является самым эффективным для прогноза, предупреждения и контроля насекомых, в том числе и каштановой минирующей моли (Буров, 1987). Группой А. Сватоса был идентифицирован половой феромон каштановой минирующей моли как E8,*Z10*-тетрадека-8,10-диен-1-аль. Впоследствии было предложено несколько методов синтеза E8,*Z10*-тетрадека-8,10-диен-1-аля, базирующихся на стратегии формирования основной С-С цепи из различных коротких углеродных фрагментов (Svatos et al., 1999).

Результаты изучения аттрактивности и персистентности феромона каштановой моли (ФГБУ «ВНИИКР», 2016 г.)

Вариант опыта (феромон, мг + модификатор)	10.05	25.05	1.06	8.06	15.06	29.06	14.07	20.07	27.07	Итого за период опыта
Феромон 2,0 мг (эталон)	14	39	30	7	5	4	61	93	155	408
Феромон 2,0 мг + модификатор А	69	141	112	49	25	7	197	271	378	1249
Феромон 2,0 мг + модификатор Б	49	73	38	20	18	2	65	108	230	603
Феромон 2,0 мг + модификатор В	47	72	55,6	56	30	11	163	181	255	870,6
Феромон 2,0 мг + модификатор А + Б	60	131	138,3	71	46	12	316,6	448,6	565	1788,5
Феромон 2,0 мг + модификатор А+ В	47	136	141,6	71	51	17	164	314	414	1355,6
Модификатор Б	0	3	4,5	4	3	3	12	18	35	96,0
Модификатор В	0	1	5,6	4	2	2	19	27	63	123,6
Модификатор А	2	3	2,3	4	2	1	12	35	105	166,3
Контроль 0:0	1	4	7,6	0	0	1	15	25	53	106,6

При этом была выявлена проблема использования альдегидов в качестве феромонов из-за химической нестойкости этих веществ. Для решения данной проблемы могут быть использованы специальные стабилизирующие вещества – модификаторы.

Ареал каштановой минирующей моли продолжает увеличиваться из-за широко используемого по всей Европе и в Азии конского каштана обыкновенного в декоративных целях в городских и пригородных районах.

В отделе синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР» был синтезирован и испытан феромон каштановой моли. Была доказана его высокая аттрактивность в ловушке «Дельта». Целью нашей работы являлось изучение влияния модификаторов на аттрактивность феромона.

Рис. 1. Ловушка типа «Дельта» (фото Н.М. Атанова, Н.П. Кузиной)

Материалы и методы

Ловушки типа «Дельта» (рис. 1) вывешивались в трех повторностях в каждом из 10 вариантов, включая контроль, в кроне конского каштана на высоте 2 м от земли в период начала лета первого и второго поколений каштановой моли. Расстояние между ловушками 5-6 м. Учеты проводили с интервалом в 7 суток. В ловушках использовали энтомологический клей «Полификс» производства Башкирии. После каждого учета клеевой вкладыш заменяли (рис. 2) и ловушки перемещали на новое место. За период опыта ловушки меняли местами 7 раз. Резиновые диспенсе-

Fig. 2. Adhesive pad with the horse-chestnut leaf-miner males during the recording (photo by N.M. Atanov, N.P. Kuzina)

Рис. 2. Клеевой вкладыш с самцами каштановой моли в момент учета (фото Н.М. Атанова, Н.П. Кузиной)

ры марки 52-590/1К с 2 мг феромона и различными модификаторами из класса спиртов использовали на протяжении опытного периода без замены.

Данные опыта, представленные в таблице, свидетельствуют о том, что добавка к стандартной дозе 2-компонентного модификатора (А + Б) продлевает срок действия феромона в 3,3-4,4 раза. При этом сами модификаторы (А, Б) не являлись аттрактивными веществами, так как количество привлеченных самцов в ловушки с ними не столь значительно отличалось от такового показателя в контроле.

Кроме того, нами было отмечено, что использование модификаторов положительно влияет на продолжительность аттрактивного действия синтетического феромона каштановой моли.

В отделе синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР» был синтезирован и испытан феромон каштановой моли.

Результаты и обсуждение

За период наблюдений с 3.05 по 17.08 (102 суток) зафиксировано 2 пика лета самцов, соответствующие двум полным генерациям вредителя (рис. 3).

Максимальная численность каштановой моли зафиксирована во втором поколении в период с 27.07 по 3.08, что совпадает с данными М.А. Голосовой, и в дальнейшем в связи с понижением среднесуточных температур отмечалось снижение численности и интенсивности лета вредителя (рис. 3). Наблюдения по биологии каштановой моли показали, что лет вредителя продолжался вплоть до завершения опыта.

Изучение влияния модификаторов на аттрактивность феромона каштановой моли проводили в период от начала лета первого поколения вредителя до массового лета во втором поколении с 3.05 по 27.07.

Заключение

1. Для мониторинга каштановой моли наиболее эффективным является феромон в дозе 2 мг, нанесенный на резиновую пробку марки 52-599/1К, с добавлением модификаторов из класса спиртов.

2. Добавка модификаторов к стандартной дозе феромона 2 мг продлевает срок действия феромона.

Авторы выражают искреннюю благодарность заведующему лабораторией испытания феромонов к.б.н. В.Л. Пономареву за ценные советы при проведении испытаний.

Литература

1. Буров В.Н., Сазонов А.П. Биологически активные вещества в защите растений. М.: ВО «Агропромиздат», 1987. С. 117-121.

2. Гниненко Ю.И. Инвазии чуждых видов в лесные сообщества, Сб. «Экологическая безопасность и инвазии чужеродных организмов». М., 2002. С. 65-67.

3. Голосова М.А. Биологическая инвазия каштановой минирующей моли в Московском регионе. Ж. Лесной вестник, № 5, 2009. С. 90-93.

4. Камаев И.О., Тодоров Н.Г. Исследование эффективности синтетического феромона и феромонных ловушек для каштановой моли (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič, 1986) в Московской области. Ж. Карантин растений. Наука и практика. № 1, 2014. С. 52-55.

5. Svatos A., Kalinova B., Hoskovec M., Kindl J., Hovorka O., Hrdy I. Identification of a New Lepidopteran Sex Pheromone in Picogram Quantities using an Antennal Biodetector: (8E,10Z)-tetradeca-8,10-dien-1-al from *Cameraria ohridella* // Tetrahedron Letters, 1999. V. 40. P. 7011-7014.

UDC 632.7.08

Impact of Modifiers on the Attractiveness

OF THE HORSE-CHESTNUT LEAF-MINER'S PHEROMONE *CAMERARIA OHRIDELLA* DESCHKA ET DIMIČ, 1986

N.M. Atanov, Leading Researcher of FGBU "VNIIKR"

N.P. Kuzina, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR"

A.A. Kuzin, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR"

M.V. Chirskaya, Senior Researcher of FGBU "VNIIKR"

Abstract. *The object of the research is the horse-chestnut leaf-miner moth Cameraria ohridella. The impact of three modifiers and their combination with a standard dose of pheromone on the attractiveness in "Delta" adhesive trap has been studied.*

As a result of the researches "Delta" adhesive trap with the dispenser (rubber stopper) containing the pheromone in the amount of 2 mg + the modifier can be recommended.

Keywords. *Horse-chestnut leaf-miner moth, Cameraria ohridella, pheromone, dispenser, traps, preparative form, attractiveness, modifier.*

The horse-chestnut leaf-miner also referred to as the leaf-mining moth or the chestnut leaf-miner (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič, 1986) belongs to leaf blotch miners (Insecta, Lepidoptera, Gracillariidae). It was described upon the samples collection gathered in 1984-1985 in the highlands of Macedonia.

This species is characterized by a high nutritional adaptation, as it damages leaves of the horse chestnut (*Aesculus*) and the great maple (*Acer pseudoplatanus*). The leaf-mining larvae damage not only leaves of the horse-chestnut of *Aesculus hippocastanum* and related species *A. carnea* and the *A. pavia*, but also a number of maples species. Species of *A. pavia* (Burov, 1987; Gninenko, 2009) are damaged the most.

Up to 2016, the horse-chestnut leaf-miner has been registered in the following countries: Albania, Austria, Belgium, Bulgaria, Bosnia, Britain, France, Germany, Herzegovina, Greece, Denmark, Spain, Italy, Kosovo, Latvia, Liechtenstein, Lithuania, Luxembourg, Macedonia, Moldova, Netherlands, Norway, Poland, Romania, Serbia, Slovakia, Slovenia, Turkey, Ukraine, France, Czech Republic, Sweden, Switzerland, Croatia and Estonia, as well as the European part of the Russian Federation.

The area of the chestnut miner moth is still growing throughout Europe and Asia due to the widely used the horse chestnut in the urban and the peri-urban areas for ornamental purposes. Over the summer and the autumn of 2013, the leaf-mining moth spread in several locations in Norway, namely in Fredrikstad, Frogn and Oslo. Regarding the Russian Federation, the horse-chestnut leaf-miner moth is found in the Kaliningrad region. The horse-chestnut leaf-miner moth is spread in the Regions of Bryansk, Kursk, Belgorod, Rostov, Oryol and Moscow. In the Moscow region, the horse-chestnut leaf-miner grows in two generations: the first generation in May and the second generation in July (Gninenko, 2002). The flight of imago is observed from May till September.

The leaf-mining larvae damage not only leaves of the horse-chestnut of Aesculus hippocastanum and related species A. carnea and the A. pavia, but also a number of maples species.

The main control method of the chestnut moth abatement is a chemical

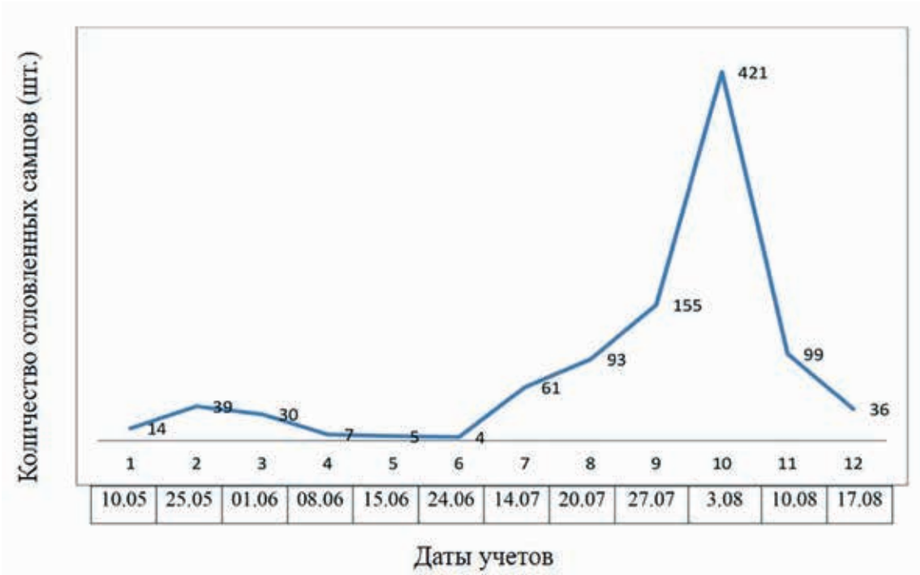


Fig. 3. The dynamics of the chestnut moth flight in 2016 (pos. Bykovo, Moscow region, FGBU "VNIIKR"): vertically: number of captured males (specimens), horizontally – dates of countings

Рис. 3. Динамика лета каштановой моли в 2016 г. (пос. Быково Московской обл., ФГБУ «ВНИИКР»)

method, but its application is limited by larvae's latent way of life and the restrictions of pesticide use on green plants in urban environment. Being environmentally-friendly, the pheromone method is the most efficient for prediction, prevention and control of insects, including the horse-chestnut leaf-miner moth (Burov, 1987). A. Svatos workgroup identified the sex pheromone of the horse-chestnut leaf-miner moth E8,Z10-tetradeca-8,10-diene-1-al. Later, there were suggested several synthesis methods for E8,Z10-tetradeca-8,10-dien-1-al, based on the strategy of forming the main C-C chain from different short carbon fragments (Svatos et al., 1999).

Thus, the problem of the aldehydes use as pheromones due to the chemical instability of these substances has been identified. The special stabilizing agents – modifiers can be used to solve this problem.

Pheromones Synthesis and Application Department of FGBU "VNIIKR" synthesized and tested the horse-chestnut leaf-miner moth pheromone. Its high attractiveness in "Delta" trap has been proved. The aim of this work was studying modifiers' influence on the pheromone's attractiveness.

Materials and methods

"Delta" traps (Fig. 1) were hung in 3 sets of replicates in each of the 10 options, including control, in the crown of the horse chestnut at the height of 2 m above the ground at the beginning of the flying period of the horse-chestnut leaf-miner moth first and second generations. The distance between the traps was 5-6 m. The records were performed every 7 days. The entomological glue "Polifiks" produced in Bashkiria was used in the traps. The adhesive pad was replaced after each record (Fig. 2) and the traps were moved to a new location. The traps were moved seven times within the research period. The rubber dispensers of the trade mark 52-590/1K containing 2 mg of pheromone and various modifiers from the alcohols class were used during the test period without any replacement.

The area of the chestnut miner moth is still growing throughout Europe and Asia due to the widely used the horse chestnut in the urban and the peri-urban areas for ornamental purposes.

Results and comments

There were two peaks of the males flight corresponding to the two full pest generations during the observation period from 3.05 till 17.08 (within 102 days) (Fig. 3).

The peak number of the chestnut moth was recorded in the 2nd generation in the period from 27/07 till 3/08, which coincides with the data obtained by M.A. Golosova. And later, due to decrease of the average daily temperature the pest's population and flight intensity reduced (Fig. 3). Studies of the chestnut moth biology showed that the pest flight continued until the completion of the tests.

The results of the attractiveness study and persistency of the chestnut moth pheromone (FGBU "VNIIKR", 2016)

Test variant (pheromone, mg + modifier)	10.05	25.05	1.06	8.06	15.06	29.06	14.07	20.07	27.07	Total of a test period
Pheromone 2.0 mg (etalon)	14	39	30	7	5	4	61	93	155	408
Pheromone 2.0 mg + modifier A	69	141	112	49	25	7	197	271	378	1249
Pheromone 2.0 mg + modifier B	49	73	38	20	18	2	65	108	230	603
Pheromone 2.0 mg + modifier V	47	72	55,6	56	30	11	163	181	255	870,6
Pheromone 2.0 mg + modifier A + B	60	131	138,3	71	46	12	316,6	448,6	565	1788,5
Pheromone 2.0 mg + modifier A + V	47	136	141,6	71	51	17	164	314	414	1355,6
Modifier B	0	3	4,5	4	3	3	12	18	35	96,0
Modifier V	0	1	5,6	4	2	2	19	27	63	123,6
Modifier A	2	3	2,3	4	2	1	12	35	105	166,3
Control 0:0	1	4	7,6	0	0	1	15	25	53	106,6

The analysis of modifiers influence on the chestnut moth pheromone attractiveness was performed from the beginning of the flight of the first pest generation to the mass flight in the second pest generation from the 3/05 till 27/07. The data in the Table indicate that the adding of the two component modifier to the standard dose (A + B) makes the pheromone duration 3.3-4.4 times. Longer, those modifiers (A, B) were not as because the number of males attracted to the traps was quite similar to the number in the control test.

In addition, it has been noted that application of the modifiers has a positive impact on the length of the attractive effect of the synthetic chestnut moth pheromone.

Conclusion

1. The most effective dose of pheromone for monitoring of the chestnut moth pheromone is 2 mg, spread on the rubber stopper of the brand 52-599/1K, with adding of the modifiers from the alcohol class.

2. Adding modifiers to the standard dose of the pheromone of 2 mg prolongs the pheromone duration.

Pheromones Synthesis and Application Department of FGBU "VNIIKR" synthesized and tested the horse-chestnut leaf-miner moth pheromone.

The authors give acknowledgements to the Head of Pheromones Testing Laboratory, Ph.D. V.L. Ponomarev, for his valuable advice during the tests.

References

1. Burov V.N., Sazonov A.P. Biologically-active agents in the plant protection. M.: VO "Agropromizdat", 1987. P. 117-121.

2. Gninenko Y.I. Invasion of the Alien Species in the *Xylium*, Sb. "Ecological safety and Invasion of the Non-Indigenous Organisms". Moscow, 2002. P. 65-67.

3. Golosova M.A. Biological invasion of the horse-chestnut leaf-miner moth in Moscow region. M. Lesnoy Vestnik (Forest Bulletin), n. 5, 2009, P. 90-93.

4. Kamaev I.O., Todorov N.G. Investigation of the effectiveness of synthetic pheromone and the pheromone traps for the horse-chestnut leaf-miner moth (*Cameraria ohridella* Deschka et Dimič, 1986) in the Moscow region. M. Plant Health. Research and Practice, No 1, 2014. P. 52-55.

5. Svatos A., Kalinova B., Hoskovec M., Kindl J., Hovorka O., Hrdy I. Identification of a New Lepidopteran Sex Pheromone in Picogram Quantities using an Antennal Biodetector: (8E,10Z)-tetradeca-8,10-dien-1-al from *Cameraria ohridella* // Tetrahedron Letters, 1999. V. 40. P. 7011-7014.

УДК 632.911.2/632.913.1

СТАЖИРОВКА СПЕЦИАЛИСТОВ ФГБУ «ВНИИКР» В ОБЛАСТИ ДИАГНОСТИКИ ФИТОПАТОГЕНОВ

в Национальном институте биологии Словении

Г.Н. Матяшова, научный сотрудник научно-экспериментального отдела Научно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИКР»

М.А. Тихомирова, младший научный сотрудник лаборатории вирусологии Испытательного экспертного центра ФГБУ «ВНИИКР»

Аннотация. *В статье приведены результаты стажировки специалистов ФГБУ «ВНИИКР» в Республике Словения. В процессе повышения квалификации по изучению и диагностике вирусов, вироидов и фитоплазм – возбудителей болезней сельскохозяйственных культур были рассмотрены такие методы, как ПЦР в режиме «реального времени», LAMP-ПЦР, электронная микроскопия, секвенирование нового поколения (NGS), а также автоматизация проведения лабораторной экспертизы фитопатогенов и метод концентрации вирусных частиц в целях их идентификации в замкнутой системе поливов.*

Ключевые слова. *Диагностика, вирусы, вироиды, фитоплазмы, ПЦР, международное сотрудничество.*

Повышение квалификации специалистов в области карантина растений – одно из необходимых условий для эффективного развития диагностики вредных организмов, так как меняются инструментарий, методология, а вместе с ними и точность методов идентификации. Особенно актуально это в отношении карантинных объектов, отсутствующих на территории Российской Федерации. Развитие сотрудничества с научно-исследовательскими организациями, занимающимися карантинными вредными объектами, и международные стажировки позволяют повышать профессиональный уровень специалистов и развивать новые подходы в отечественной диагностике.

Развитие сотрудничества с научно-исследовательскими организациями, занимающимися карантинными вредными объектами, и международные стажировки позволяют повышать профессиональный уровень специалистов и развивать новые подходы в отечественной диагностике.

С 19 сентября по 1 октября 2016 года сотрудники ФГБУ «ВНИИКР» – заведующий лабораторией вирусологии Испытательного экспертного центра к.б.н. Ю.А. Шнейдер, научный сотрудник научно-экспериментального отдела Научно-аналитического центра Г.Н. Матяшова и младший научный сотрудник лаборатории вирусологии Испытательного экспертного центра М.А. Тихомирова прошли стажировку по современным методам диагностики вирусов, вироидов и фитоплазм в Национальном институте биологии Словении (NIB, г. Любляна).

Данный институт, созданный в 1960 году, является крупнейшим государственным научно-исследовательским учреждением в области естественных наук Словении (рис. 1). Основные направления его деятельности связаны с развитием и применением исследований в области биотехнологии, биофизики, биомедицины и окружающей среды. Специалисты института принимают участие в международных научных проектах совместно со специалистами из Бразилии, Японии, Китая, России, Франции и США.

Специалисты ФГБУ «ВНИИКР» проходили стажировку, включавшую теоретические и практические занятия, на базе лаборатории микробиологии отдела биотехнологии и биологии. Сотрудники лаборатории занимаются исследованием биоразнообразия и закономерностей распространения микроорганизмов, разработкой методов выявления и контроля фитопатогенных бактерий, вирусов и фитоплазм.

Fig. 1. National Institute of Biology in Slovenia (NIB)

Рис. 1. Национальный институт биологии Словении (NIB)

В процессе стажировки были рассмотрены проблемы подготовки проб, включающие методы отбора растительных тканей, содержащих наибольшее количество возбудителей болезней; методы гомогенизации растительных образцов в полевых условиях и в лаборатории для оптимальной изоляции нуклеиновых кислот фитопатогенов; а также методы идентификации фитопатогенов – ПЦР в режиме «реального времени» (ПЦР-РВ), цифровая капельная ПЦР (ddPCR), LAMP, секвенирование нового поколения (NGS) (рис. 2).

Специалисты ФГБУ «ВНИИКР» проходили стажировку, включавшую теоретические и практические занятия, на базе лаборатории микробиологии отдела биотехнологии и биологии.

Рис. 2. Проведение подготовки проб из растений винограда

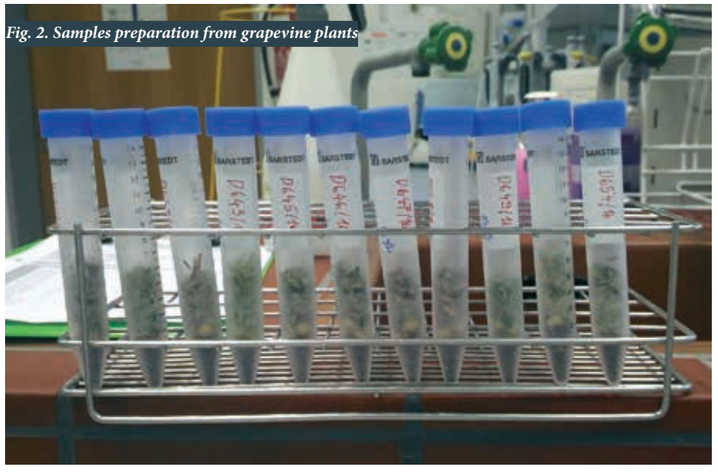


Fig. 2. Samples preparation from grapevine plants

Одним из этапов стажировки явилось обучение диагностике вирусов и вироидов, в ходе которого было обращено внимание на процесс идентификации и концентрации вирусных и вироидных частиц в анализируемом образце. Особый интерес представляло изучение вируса мозаики пепино PepMV и вироида веретеновидности клубней картофеля PSTVd.

Вирус мозаики пепино (Pepino mosaic virus, PepMV) поражает представителей семейства Пасленовые (Solanaceae) и представляет серьезную опасность для производителей томатов по всему миру. Европейской и Средиземноморской организацией по карантину и защите растений (ЕОКЗР) данный фитопатоген включен в список карантинных ограниченно распространенных вредных организмов. Основные растения – хозяева PepMV – пепино и томат. Вирус легко распространяется механическим путем – во время сбора плодов, обрезки растений и др.

Также его могут переносить шмели в теплицах и, по последним данным, он может сохраняться в воде до трех недель (Mehle et al., 2014). Вирус содержится в семенной оболочке томатов, что позволяет ему широко распространяться по всему миру в результате торговли инфицированными семенами. Симптомы вируса широко варьируют – от скрытой формы до весьма значительных повреждений растений, таких как обесцвечивание плодов, появление на плодах и листьях хлоротических пятен и мозаики, а также их деформации, что делает продукцию непригодной к реализации (рис. 3).

Fig. 3. PepMV symptoms on tomato Cherry (isolate TomH-1) (photo by Y.A. Shneider)

Рис. 3. Симптомы PepMV на томате черри (изолят TomH-1) (фото Ю.А. Шнейдера)

Другим опасным объектом является вироид веретеновидности клубней картофеля (Potato spindle tuber viroid, PSTVd), способный вызывать потери урожая картофеля до 75%. PSTVd включен в Перечень карантинных организмов Российской Федерации и является карантинным объектом списка ЕОКЗР. Вироид регламентируется международными и национальными сертификационными программами по производству семенного картофеля. Помимо картофеля, PSTVd поражает томат и другие растения семейства Пасленовые (рис. 4). Сложность борьбы с PSTVd обусловлена многообразием способов его распространения. На большие расстояния вироид распространяется с зараженными настоящими семенами и клубнями картофеля, с рассадой и семенами томата, с рассадой других растений-хозяев. Обычным является распространение PSTVd механическим путем при контакте растений, а также с питательными растворами на гидропонных установках. Патоген способен длительное время сохраняться в семенах томата и картофеля, в сухих растительных остатках, а также в высохшем соке растений на сельскохозяйственных орудиях, инвентаре и в хранилищах (Методические рекомендации.., 2015).

Специалисты ФГБУ «ВНИИКР» после прослушивания курса теоретических занятий о диагностике PepMV и PSTVd в семенах на практических занятиях выделяли РНК с помощью набора Qiagen RNeasy Plant Mini Kit, проводили ПЦР с обратной транскрипцией в одной пробирке. Преимуществами этого способа являются быстрота, большая чувствительность, меньшая стоимость анализа по сравнению с двухэтапной ПЦР, но имеется и ряд недостатков: например, нет возможности сохранить кДНК после амплификации, так как РНК, в отличие от кДНК, менее устойчива, а эффективность фермента транскриптазы зависит от концентрации РНК.

Вирус мозаики пепино (Pepino mosaic virus, PepMV) поражает представителей семейства Пасленовые (Solanaceae) и представляет серьезную опасность для производителей томатов по всему миру.

Специалисты ФГБУ «ВНИИКР» также ознакомились с фундаментальными методами, применяемыми в диагностике вирусов и вироидов. К ним относится электронная микроскопия – метод, позволяющий узнать форму, размер и структуру исследуемого объекта.

Сотрудники Национального института биологии представили информацию о методе концентрации вирусов и вироидов из проб воды с использованием технологии конвективного взаимодействия среды (Convective Interaction Media – CIM monoliths) в комбинации с амплификацией в режиме «реального времени» на приборе Smart Cycler Real Time PCR. Принцип метода заключается в пропускании большого объема воды через специальные фильтры, на которых абсорбируются частицы вирусов и вироидов. Необходимость применения данного метода связана с тем, что вирус PepMV может сохраняться в активном виде в воде до трех недель, а PSTVd – до семи недель (Mehle et al., 2014), приводя к значительному ущербу при использовании системы орошения и капельного полива в теплицах.

В ходе стажировки был продемонстрирован цифровой капельный ПЦР-анализ (Droplet Digital PCR, ddPCR) – усовершенствованный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), используемый для детекции искомого фитопатогена в очень низких концентрациях (Хьюгет, Вейл, 2014). Реакционная смесь после добавления ДНК распыляется на 20 000 капель, попадающих на лунки чипа. Чип содержит ячейки, на которых в каплях протекает ПЦР. При этом возможна визуализация результата реакции в режиме «реального времени» с каждой ячейки. В дальнейшей диагностике чип может быть использован для проведения секвенирования (http://www.bio-rad.com/en-us/product/qx200-droplet-digital-pcr-system).

Вторая часть стажировки была посвящена рассмотрению методов диагностики фитоплазм, предложенных специалистами Национального института биологии для использования

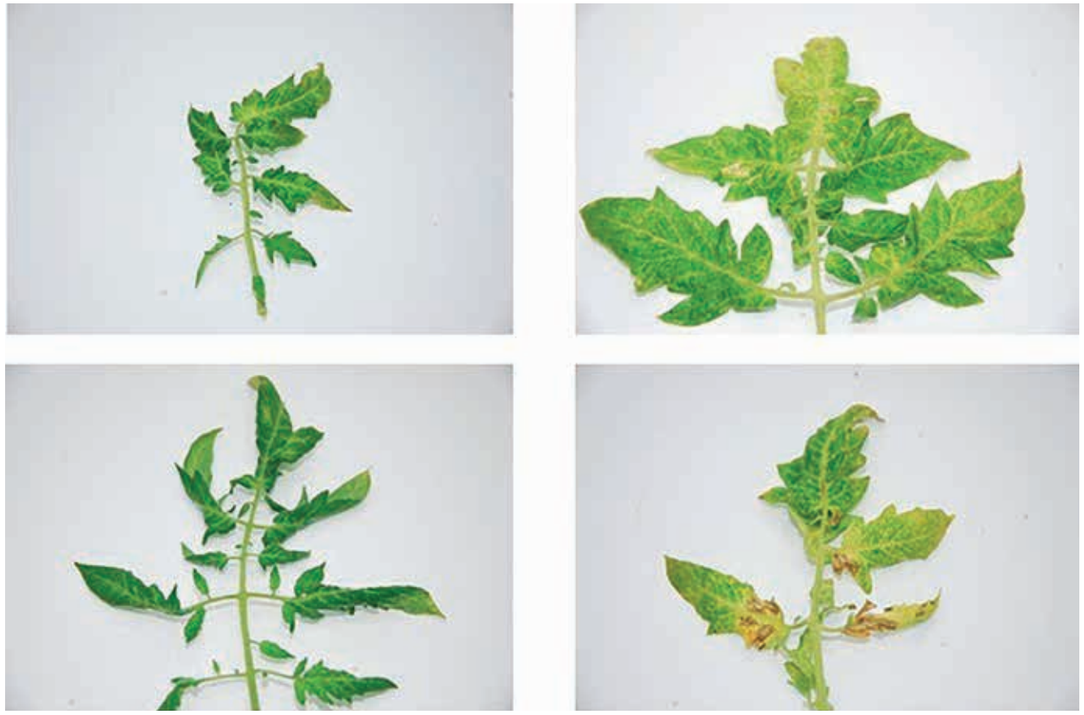


Fig 4. Tomato leaves, inoculated by PSTVd (photo by Y.N. Prikhodko, S.B. Abrosimova)

Рис. 4. Листья растения томата, инокулированного PSTVd (фото Ю.Н. Приходько, С.Б. Абросимовой)

в стандартах и протоколах ЕОКЗР (Mehle et al., 2011). Специалистов ФГБУ «ВНИИКР» заинтересовало изучение возбудителя золотистого пожелтения винограда *Candidatus* Phytoplasma vitis (Grapevine flavescence dorée phytoplasma). Фитопатоген находится в перечне карантинных объектов, отсутствующих на территории Российской Федерации.

Трудности выявления и идентификации данного фитопатогена при визуальном осмотре заключаются в неявном проявлении симптоматики заболевания наряду с возможным латентным заражением, а также в недостаточно разработанном комплексе молекулярно-генетических методов видовой диагностики организма. Основным растением – хозяином возбудителя золотистого пожелтения *Ca*. Phytoplasma vitis (FD) является виноград – *Vitis vinifera* L. При заражении через переносчиков инфекция может развиваться и сохраняться на барвинке, хризантеме, клевере и др. Еще одной проблемой является сложность дифференциации карантинного вида с другим близким видом фитоплазмы – возбудителем почернения коры винограда *Candidatus* Phytoplasma solani, так как симптомы повреждения у обеих инфекций идентичны (рис. 5). В вопросах идентификации фитоплазм особое внимание уделяют методам подготовки проб и применяемым тест-системам с максимальной чувствительностью и специфичностью.

На теоретических занятиях были рассмотрены проблемы отбора растительного материала, его транспортировки и хранения. Известно, что при нарушении температурных режимов хранения и транспортировки резко снижается возможность экстрагирования ДНК фитоплазм из образцов плодовых культур и винограда, так как при отмирании растительных тканей деградируют и клеточные структуры фитоплазм (Mehle et al., 2011). Кроме вопроса об устойчивости ДНК фитоплазм в растительных тканях, внимание стажирующихся было обращено на низкую концентрацию фитопатогена в осенне-зимний период.

В ходе стажировки был продемонстрирован цифровой капельный ПЦР-анализ (Droplet Digital PCR, ddPCR) – усовершенствованный метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), используемый для детекции искомого фитопатогена в очень низких концентрациях.

В рамках повышения квалификации на практических занятиях совместно с сотрудниками NIB специалисты ФГБУ «ВНИИКР» проводили выделение ДНК фитоплазм из образцов винограда с помощью автоматической системы KingFisher Duo компании “Thermo Fisher Scientific” (рис. 6). Метод, так же как и при работе на автоматической системе EVO TECAN в ФГБУ «ВНИИКР», заключался в использовании магнитных частиц, но при этом использовалась 6-канальная магнитная колонка вместо магнитной платформы и шейкирование вместо пипетирования.

Коммерческий набор соответствовал поставленной задаче – выделение ДНК из тканей растений.

После выделения нуклеиновых кислот на практических занятиях проводили ПЦР в режиме «реального времени» с тремя системами праймеров и зондов для идентификации *Candidatus* Phytoplasma vitis и *Candidatus* Phytoplasma solani, которые повреждают виноград (рис. 7). Необходимость такого количества анализов заключается в разной чувствительности и специфичности тест-систем (Mehle et al., 2013). При этом для удобства и сокращения времени подготовки образцов ДНК в Национальном институте используют 384-луночные плашки при внесении пробы ДНК с помощью специального планшета с программой пипетирования компании BioSistemika. В процессе исследования совместно с коллегами из Словении было определено, что нецелесообразно использовать одну из трех систем ПЦР-РВ для видовой идентификации фитоплазмы золотистого пожелтения винограда и включать ее в доработанный диагностический протокол ЕОКЗР.

Помимо метода ПЦР-РВ для диагностики фитоплазм за время стажировки был изучен LAMP-метод – петлевая изотермическая амплификация ДНК (Kogovsek et al., 2015). На сегодняшний день этот метод является самым быстрым среди молекулярно-генетических методов, так как не требуется процесс выделения ДНК фитопатогена, не используются дополнительные методы визуализации результатов ПЦР (электрофорез) и для получения первых достоверных данных необходимо всего лишь от 15 до 20 минут (Gill, Ghaemi, 2008). При этом нельзя оставить без внимания высокую специфичность метода и меньшую чувствительность к загрязнениям образца ДНК белками и сторонними нуклеиновыми кислотами.

В рамках обучения были подробно рассмотрены правила проведения валидации каждого из изученных методов и аккредитации для работы с фитопатогенами, существующие в лаборатории Национального института биологии (рис. 8).

Полученные знания и навыки будут применены в разработке и совершенствовании методических рекомендаций по выявлению и идентификации карантинных вредных организмов, таких как возбудитель золотистого пожелтения винограда *Candidatus* Phytoplasma vitis, вироид веретеновидности клубней картофеля PSTVd и других фитопатогенов овощных и плодовых культур, с последующей реализацией в отечественной практике карантинной фитосанитарной экспертизы.

Fig. 5. Phytoplasmas symptoms of damage to the grapes (photo by G.N. Matyashova)

Рис. 5. Симптомы повреждения винограда фитоплазмами (фото Г.Н. Матяшовой)

В рамках повышения квалификации на практических занятиях совместно с сотрудниками NIB специалисты ФГБУ «ВНИИКР» проводили выделение ДНК фитоплазм из образцов винограда с помощью автоматической системы KingFisher Duo компании "Thermo Fisher Scientific".

Литература

1. Хьюгет Дж., Вейл А. Цифровая ПЦР как новая технология и ее потенциальный вклад в молекулярную диагностику // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. № 11. С. 6-8.
2. Методические рекомендации по выявлению и диагностике вироида веретеновидности клубней картофеля (Potato spindle tuber viroid). № 38-2015 МР ВНИИКР. 2015. С. 10-17.
3. Gill P., Ghaemi A. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review // Nucleosides, nucleotides & nucleic acids. 2008. № 27. P. 224-243.
4. Mehle N., Ravnikar M., Seljak G., Knapič V., Dermastia M. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia // Phytopathogenic Mollicutes. Vol. 1 (2), 2011. 12 p.
5. Mehle N., Prezelj N., Hren M., Boben J., Gruden K., Ravnikar M., Dermastia M. A real-time PCR detection system for the bois noir and flavescence dorée phytoplasmas and quantification of the target DNA // Methods of molecular biology. 2013. № 938. P. 253-268.
6. Mehle N., Gutiérrez-Aguirre I., Prezelj N., Delić D., Vidic U. and Ravnikar M. Survival and Transmission of Potato Virus Y, Pepino Mosaic Virus, and Potato Spindle Tuber Viroid in Water, Applied and Environmental Biology, 2014. P. 1455-1462.
7. Kogovsek P., Hodgetts J., Hall J., Prezelj N., Nikolić P, Mehle N., Lenarčič R., Rotter A., Dickinson M., Boonham N., Dermastia M., Ravnikarar M. LAMP assay and rapid sample preparation method for on-site detection of flavescence dorée phytoplasma in grapevine // Plant pathology. 2015. Vol. 64 (2). P. 286-296.
8. http://www.bio-rad.com/en-us/product/qx200-droplet-digital-pcr-system.

UDC 632.911.2/632.913.1

TRAINING FOR FGBU "VNIIKR" EXPERTS IN THE FIELD OF DIAGNOSIS OF PLANT PATHOGENS

at the National Institute of Biology in Slovenia

G.N. Matyashova, Researcher, Research and Testing Department of Scientific and Analytical Center of FGBU "VNIIKR"

M.A. Tikhomirova, Junior Researcher, Virology Laboratory of Expert Test Center of FGBU "VNIIKR"

Abstract. *The article provides the results of the training of FGBU "VNIIKR" experts in the Republic of Slovenia. During the professional training on the study and diagnosis of viruses, viroids and pathogenic phytoplasmas of crops diseases such methods as the real-time PCR, the LAMP-PCR, the submicroscopy, the new-generation sequencing (NGS) were considered as well as the automation of laboratory examination of phytopathogens and of viral particle concentration in order to identify them in a closed-loop irrigation.*

Keywords. *Diagnostics, viruses, viroids, phytoplasmas, PCR, international cooperation.*

The advanced training of specialists in the plant quarantine is one of the necessary conditions for the effective development of diagnostics of harmful organisms due to changing of the tools, methodology and the precision of identification methods.

Development of cooperation with scientific and research organizations working with quarantine harmful objects, and international internships allow to raise the professional level of experts and to develop new approaches in the national diagnosis.

Fig. 6. Grapevine samples after the automate homogenization

Рис. 6. Образцы винограда после автоматической гомогенизации

This is especially relevant to the quarantine objects not registered on the territory of the Russian Federation. Development of cooperation with scientific and research organizations working with quarantine harmful objects, and international internships allow to raise the professional level of experts and to develop new approaches in the national diagnosis.

Since the 19th of September till the 1st of October 2016 the FGBU "VNIIKR" staff members Y.A. Shneider, Ph.D. in Biology, and Head of the Virology Laboratory of Expert Test Center, G.N. Matyashova, Researcher of the Department of Scientific and Analytical Center, and M.A. Tikhomirova, Junior Researcher of the Virology Laboratory of Expert

Test Center, have underwent training at the National Institute of Biology in Slovenia (NIB, Ljubljana) and learned the modern methods of diagnosis of viruses, viroids and phytoplasmas.

This Institute is the largest public research institution, founded in 1960 year, in the field of natural sciences in Slovenia (Fig. 1). The core activity of NIB is developmental and applicative research in the fields of biotechnology, biophysics, biomedicine and environmental sciences. Specialists of the Institute are involved in international research projects together with experts from Brazil, Japan, China, Russia, France and USA.

FGBU "VNIIKR" experts completed a professional internship which included theoretical and practical studies on the basis of the Laboratory of Microbiology at the Department of Biotechnology and Biology.

FGBU "VNIIKR" experts completed a professional internship which included theoretical and practical studies on the basis of the Laboratory of Microbiology at the Department of Biotechnology and Biology. The laboratory staff engaged in the study of biodiversity and distribution of microorganisms, development of methods for identification and monitoring of phytopathogenic bacteria, viruses and phytoplasmas.

The following issues were during the internship were considered, namely: samples preparation, including methods of sampling procedure of plant tissues containing the highest number of disease excitants; homogenization methods of plant samples in the field and in the laboratory in order to determine the optimal isolation of phytopathogenic nucleic acids as well as identification methods of phytopathogens – real-time PCR (RT-PCR), the droplet digital PCR (ddPCR), the LAMP, the next-generation sequencing (NGS) (Fig. 2).

The diagnosis of viruses and viroids was one of the stages of the internship during which the attention was drawn to the identification's process and viral and viroid particle concentration in the test sample portion. The study of pepino mosaic virus (PepMV) and the potato spindle tuber viroid (PSTVd) was of particular interest to the experts.

Pepino mosaic virus (PepMV) affects species of solanaceous, and poses grave risks to the worldwide tomato producers. This phytopathogen is included into the A2 list of quarantine pests in European and Mediterranean Organization for Plant Protection (EPPO). The main PepMV host plants are pepino and tomato. The virus easily spreads mechanically during the harvesting period, the plants pruning and etc. Also the bumblebees can transmit it in greenhouses and, according to recent data, it can be kept up to 3 weeks in water (Mehle et al., 2014). The virus is contained in the seed coat of tomatoes, which allows it to be widely spread throughout the world as a result of infected seeds trade. Symptoms of the virus commonly vary from a hidden form to a very considerable plant damage, such as discoloration of the fruit and the appearance of chlorotic spots and mosaics on fruits and leaves as well as their distortion, making the products unfit for sale (Fig. 3).

Potato spindle tuber viroid (PSTVd) is another dangerous object alterant of potato's crop loss to 75%. PSTVd is included into the list of quarantine organisms of the Russian Federation and is the quarantine item of the EPPO quarantine list. Viroid is regulated by international and national certification schemes for the production of seed potatoes. Besides potatoes, PSTVd affects tomato and other plants of Solanaceae genus (Fig. 4). The complexity of the abatement with PSTVd arises from the numerous ways of its dissemination. Viroid spreads over a long distance with infected seeds and tubers of potatoes with sprouts and tomato seeds, with seedlings of other host plants. Usually PSTVd spreads mechanically by means of contact with plants as well as hydroponic nutrient solution to plants. The pathogen is able to remain for a long time on the tomato and potato seeds, dry plant residues as well as on the dried sap of plants, on the agricultural implements, inventory and storage facilities (Methodological Guidelines.., 2015).

After theoretical studies on the diagnosis PepMV and PSTVd seeds, FGBU "VNIIKR" experts isolated RNA using a set of Qiagen RNeasy Plant Mini Kit and performed Reverse Transcription PCR (RT-PCR) in vitro in practical classes. Rapidity, higher sensitivity and lower cost compared to two-steps PCR analysis are the advantages of this method. But it has some disadvantages: for example, there is no possibility to keep the cDNA after amplification because the RNA compared to cDNA is less stable and the effectiveness of transcription interaction media technology (Convective Interaction Media – CIM monoliths) coupled with amplification in "real time" on the Smart Cycler Real Time PCR device. The methodological principle consists of passing a large volume of water through special filters which absorbs virus particles and viroids. The necessity of this method is the fact that PepMV virus can be maintained in an active form in the water up to three weeks, and PSTVd virus up to seven weeks (Mehle et al., 2014), resulting in a significant damage of irrigation systems and drip watering in greenhouses.

Fig. 7. DNA dilution for PCR and LAMP tests

Рис. 7. Разведение образцов ДНК для проведения ПЦР- и LAMP-анализов

Рис. 8. Внесение ДНК, исследуемых в процессе стажировки, в 384-луночные плашки с помощью электронного приложения на планшете компании BioSistemica

Fig. 8. DNA adding into the 384-well plates by means of special tablet with pipetting program of BioSistemika Company

scriptase enzyme depends on the RNA concentration.

FGBU "VNIIKR" experts learned the fundamental methods applied in the diagnosis of viruses and viroids. Among these is a submicroscopy method, enable to determine the shape, size and structure of the tested object.

Employees of the National Institute of Biology presented information on the method of concentration of viruses and viroids of water samples using a con-

Pepino mosaic virus (PepMV) affects species of solanaceous, and poses grave risks to the worldwide tomato producers.

A droplet digital PCR (ddPCR) was demonstrated in the course of the internship i.e. an improved polymerase chain reaction (PCR) method, used to detect the required phytopathogen at very low concentrations (Huget, Vail, 2014). The reaction mixture was sprayed by 20.000 droplets impinging on the chip holes after the DNA adding. The chip contains cells and the droplet digital PCR is carried out on it. Thus, the reaction result in "real time" by each cell can be visualized. The chip can be used for sequencing in further diagnostics (http://www.bio-rad.com/en-us/product/qx200-droplet-digital-pcr-system).

The second part of the internship was dedicated to the study of phytoplasmas diagnostics methods proposed by the experts of the National Institute of Biology to be used in EPPO standards and protocols (Mehle et al., 2011). FGBU "VNIIKR" experts were interested in the study of *Candidatus* Phytoplasma vitis (Grapevine flavescence dorée phytoplasma) pathogen. This phytopathogen is on the list of quarantine objects that are absent in the Russian Federation.

Difficulties of detection and identification of this phytopathogen by visual inspection consist in an implicit manifestation of disease symptoms, along with a possible latent infection as well as an insufficiently developed diagnosis complex of molecular genetic methods of the organism. The main host plant *Ca.* Phytoplasma vitis (FD) is a grapevine – *Vitis vinifera* L. If the infection is carried by vectors, it may develop and persist in the periwinkle, chrysanthemum, clover, etc. Another problem is the difficulty of quarantine species differentiation from another associated species of phytoplasma – a causative agent of *Candidatus* Phytoplasma solani because the damage symptoms in both infections are identical (Fig. 5). In matters of identification of phytoplasmas special attention is payed to the methods of sample preparation and test systems used with maximum sensitivity and specificity.

The problem of selection of plant material, its transportation and storage were studied during the theoretical studies. It is known that in case of violation of temperature conditions of storage and transportation the possibility of phytoplasmas DNA isolation from the fruit crops and grapes samples dramatically reduces, and the cell structure of phytoplasmas with the withering away of plant tissues is degraded (Mehle et al., 2011). Besides the question about the stability of DNA phytoplasmas in plant tissues, the trainees drew attention to the low concentration of phytopathogen in the autumn-winter period.

On practical studies within the internship of the experts of FGBU "VNIIKR" in collaboration with employees of NIB carried out a DNA isolation from grape phytoplasmas samples using an automatic system KingFisher Duo of the Thermo Fisher Scientific company (Fig. 6). This method, as with operation on the automatic system EVO TECAN in FGBU "VNIIKR", involved the application of magnetic particles, but along with this a 6-channel magnetic column instead of a magnetic platform and sample agitation instead of pipetting was used. Commercial kit corresponded to the application task of DNA isolation from plant tissues.

After the isolation of nucleic acids on practical training, a real time PCR was performed with three systems of primers and probes in order to identify *Candidatus* Phytoplasma vitis and *Candidatus* Phytoplasma solani, which damaged the grapes (Fig. 7). The need for such a large number of analyzes consists in different sensitivity and specificity of the test-systems (Mehle et al., 2013). Thus, for convenience of operation and in order to reduce the time of preparation of DNA samples, the National Institute used 384-well plates when adding a DNA sample using a special tablet with pipetting program

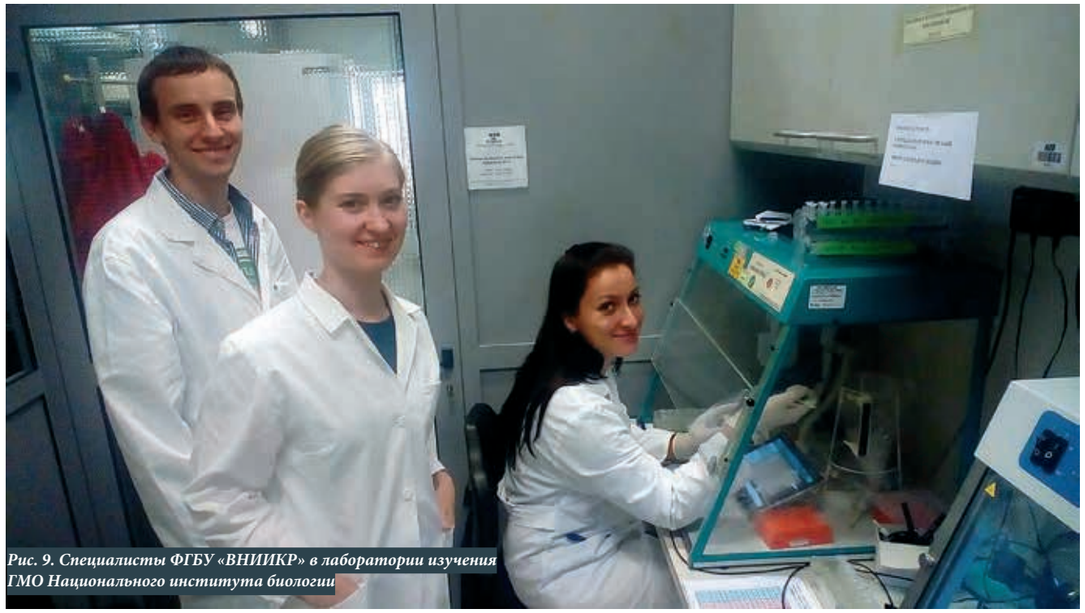


Рис. 9. Специалисты ФГБУ «ВНИИКР» в лаборатории изучения ГМО Национального института биологии

Fig. 9. FGBU "VNIIKR" experts at the GMO laboratory of National Institute of Biology

of BioSistemika Company. This study, in collaboration with colleagues from Slovenia, determined that it was inappropriate to use one of three RT-PCR systems for the specific identification of Grapevine flavescence doree phytoplasma and include it into the revised EPPO diagnostic protocol.

In addition to the RT-PCR method for the diagnosis of phytoplasmas a LAMP-method was also studied during the internship – a loop isothermal DNA amplification (Kogovsek et al., 2015). This method is currently the fastest among the molecular genetic techniques, because it does not require the process of isolating a DNA phytopathogen. Also additional visual methods for the PCR results (electrophoresis) are not used and to receive the first valid data only from 15 till 20 minutes are needed (Gill, Ghaemi, 2008). Thus, high specificity of the method, less sensitivity to contamination of the sample DNA proteins and nucleic acids by third parties cannot be ignored.

The validation rules of each studied method and the accreditation of work with plant pathogens, existing in the laboratory of the National Institute of Biology (Fig. 8) were discussed in details during the internship.

The acquired knowledge and skills will be applied to the development and refinement of guidelines for the detection and identification of quarantine pests, such as pathogen of *Candidatus* Phytoplasma vitis, potato spindle tuber viroid PSTVd and other plant pathogens of vegetable and fruit crops, followed by implementation in practice of national quarantine phytosanitary expertise.

On practical studies within the internship of the experts of FGBU "VNIIKR" in collaboration with employees of NIB carried out a DNA isolation from grape phytoplasmas samples using an automatic system KingFisher Duo of the Thermo Fisher Scientific company.

References

1. Huget G., Veil A. Digital PCR as a new technology and its potential contribution to the molecular diagnostics // Clinical pathology. 2014. № 11. P. 6-8.
2. Methodological Guidelines for detection and diagnostics of Potato spindle tuber viroid. № 38-2015 MR VNIIKR. 2015. P. 10-17.
3. Gill P., Ghaemi A. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review // Nucleosides, nucleotides & nucleic acids. 2008. № 27. P. 224-243.
4. Mehle N., Ravnikar M., Seljak G., Knapič V., Dermastia M. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia // Phytopathogenic Mollicutes. Vol. 1 (2), 2011. 12 p.
5. Mehle N., Prezelj N., Hren M., Boben J., Gruden K., Ravnikar M., Dermastia M. A real-time PCR detection system for the bois noir and flavescence dorée phytoplasmas and quantification of the target DNA // Methods of molecular biology. 2013. № 938. P. 253-268.
6. Mehle N., Gutiérrez-Aguirre I., Prezelj N., Delić D., Vidic U. and Ravnikar M. Survival and Transmission of Potato Virus Y, Pepino Mosaic Virus, and Potato Spindle Tuber Viroid in Water, Applied and Environmental Biology, 2014. P. 1455-1462.
7. Kogovsek P., Hodgetts J., Hall J., Prezelj N., Nikolić P, Mehle N., Lenarčič R., Rotter A., Dickinson M., Boonham N., Dermastia M., Ravnikarar M. LAMP assay and rapid sample preparation method for on-site detection of flavescence dorée phytoplasma in grapevine // Plant pathology. 2015. Vol. 64 (2). P. 286-296.
8. http://www.bio-rad.com/en-us/product/qx200-droplet-digital-pcr-system.

ЗДЕСЬ МОЖЕТ БЫТЬ ВАША СТАТЬЯ!

Журнал «Карантин растений. Наука и практика»

приглашает авторов для публикации своих научных работ

Редакция журнала «Карантин растений. Наука и практика» рада предложить Вам возможность публикации Ваших статей на страницах журнала. Наша цель – привлечение внимания к наиболее актуальным проблемам карантина растений специалистов сельского хозяйства и всех заинтересованных в этом людей.

В журнале рассматриваются основные направления развития науки и передового опыта в области карантина и защиты растений, публикуется важная информация о новых методах и средствах, применяемых как в России, так и за рубежом, а также о фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации.

Мы доносим до широкого круга читателей объективную научно-просветительскую и аналитическую информацию: мнения ведущих специалистов по наиболее принципиальным вопросам карантина растений, данные о значимых новейших зарубежных и отечественных исследованиях, материалы тематических конференций.

Редакция журнала «Карантин растений. Наука и практика» приглашает к сотрудничеству как выдающихся деятелей науки, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работающих в области фитосанитарии, для обмена опытом, обеспечения устойчивого фитосанитарного благополучия и для новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

Изучение основных тенденций развития науки в области карантина растений

Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и лабораторных исследований по карантину растений

Обсуждение актуальных вопросов карантина растений

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках: русском и английском, содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 10-12 страниц – но не менее 5 (при одинарном интервале и размере шрифта 12). Оптимальный объем статьи: до 20 тыс. знаков (включая пробелы).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ*

1. Название статьи.

2. Имя, отчество, фамилия автора.

3. Место работы автора, должность, ученая степень, адрес электронной почты.

4. Аннотация (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): около 7–8 строк (300-500 знаков с пробелами).

5. Ключевые слова (5-6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.

6. Материалы и методы.

7. Результаты и обсуждения.

8. Выводы и заключение.

9. Список литературы (т. е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи): правила составления - ГОСТ Р 7.05-2008.

10. Иллюстративные материалы (фотографии, рисунки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате tiff или jpeg (иллюстрации, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).

11. Рецензия на статью (доктор наук) и решение экспертной комиссии учреждения.

**В таком же порядке и структуре предоставляется англоязычный перевод статьи.*

Работа должна быть предоставлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – одинарный, размер полей по 2 см, отступ в начале абзаца 1 см, форматирование по ширине. Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники, размеры рисунка в см не больше размеров печатного поля страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

БОЛЕЕ ПОДРОБНЫЕ УСЛОВИЯ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ:

Адрес: 105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д. 13, офис 402
Контактное лицо: Михеева Кристина Сергеевна
Телефон: +7 909 958 10 30

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ ЦЕНТР КАРАНТИНА РАСТЕНИЙ» (ФГБУ «ВНИИКР»)

– Научное и методическое обеспечение деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных ему учреждений в сфере карантина и защиты растений

– Установление карантинного фитосанитарного состояния подкарантинных материалов и территории Российской Федерации путем проведения лабораторных экспертиз и мониторингов

– Научное сотрудничество с национальными и международными организациями в области карантина растений

- ФГБУ «ВНИИКР» – партнер международной программы по координации научных исследований в области карантина растений EUPHRESCO II (EUropean PHytosanitary RESearch COordination)
- Ведущее научно-методическое учреждение в составе Координационного совета по карантину растений государств – участников СНГ
- Головное научно-методическое учреждение по реализации Плана первоочередных мероприятий, направленных на гармонизацию карантинных фитосанитарных мер государств – членов Таможенного союза
- Ведущее учреждение в Российской Федерации по синтезу и применению феромонов для выявления карантинных вредных организмов
- В ФГБУ «ВНИИКР» создан и действует Технический комитет по стандартизации ТК 42 «Карантин и защита растений»
- Имеет 20 филиалов на территории Российской Федерации

Россия, 140150, Московская область, Раменский район,
пос. Быково, ул. Пограничная, д. 32
Тел./факс: (499) 271-38-24
e-mail: office@vniikr.ru, http://www.vniikr.ru